

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

**Untersuchungen zur Ausscheidung von
Lipiden und Lipoproteinen im Harn
bei Gesunden und Kranken.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz
den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt

von

Rolf Schwalbach
aus Wiesbaden

Mainz 1979

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

**Untersuchungen zur Ausscheidung von
Lipiden und Lipoproteinen im Harn
bei Gesunden und Kranken.**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz
den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt

von

Rolf Schwalbach

aus Wiesbaden

Mainz 1979



Fachbereichsdekan : Professor Dr. E. Straub

1. Gutachter : Professor Dr. Gerd J. Kremer

2. Gutachter : Professor Dr. W. Prellwitz

GLIEDERUNG

A EINLEITUNG

B LITERATURÜBERSICHT UND AUFGABENSTELLUNG

C MATERIAL UND METHODIK

I. Material

II. Methodik

- 1.) Materialaufbereitung
- 2.) Cholesterinbestimmung
- 3.) Triglyceridbestimmung
- 4.) Phosphorbestimmung
- 5.) Dünnschichtchromatographie
und Gaschromatographie
- 6.) Agarose-Gel-Elektrophorese
- 7.) Immunelektrophorese
- 8.) Statistische Methodik

D UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

I. Vorversuche zur Entwicklung der Methodik

- 1.) Proportion der Dialysierschläuche
- 2.) Verunreinigungen der Dialysierschläuche
- 3.) Beeinflussung der Versuche durch Carbowax
- 4.) Konservierung der Urine
- 5.) Herstellung des gereinigten
FOLCH-SPERRY-Extraktes
- 6.) Versuch mit Aktivkohle zur
Entfärbung und Entsalzung
- 7.) Ergebnisse

II. Elektrophorese und Immunelektrophorese

- 1.) Lipid-, Eiweiß- und Immunelektrophorese
- 2.) Ergebnisse

III. Gaschromatographische Untersuchungen

- 1.) Fettsäuren der Urin triglyceride
- 2.) Fettsäuren der Urin phospholipide
- 3.) Fettsäuren der Urin cholesterinester
- 4.) Ergebnisse

IV. Lipidkonzentration und Ausscheidung im 24-Stunden-urin

- 1.) Glycerid-Glycerin
 - a) Laborergebnisse
 - b) Statistische Analysen
 - c) Zusammenfassung
- 2.) Cholesterin
 - a) Laborergebnisse
 - b) Statistische Analysen
 - c) Zusammenfassung
- 3.) Lipidphosphor
 - a) Laborergebnisse
 - b) Statistische Analysen
 - c) Zusammenfassung

E DISKUSSION

F ZUSAMMENFASSUNG

G LITERATURVERZEICHNIS

A EINLEITUNG

Unsere Kenntnisse über Physiologie und Pathophysiologie des Lipoprotein- und Lipidstoffwechsels im menschlichen Organismus sind dank intensiver Forschungsarbeiten im letzten Jahrzehnt erheblich vertieft und erweitert worden. Resorption aus dem Darmtrakt, Transportmechanismen im Blut, Verteilung im Blut und Geweben, Metabolismus und Speicherung der verschiedenen Lipide sind ziemlich genau bekannt.

Über das Verhalten der renalen Lipidausscheidung bzw. über das Auftreten der verschiedenen Lipidklassen im Urin liegen derzeit nur spärliche Untersuchungsergebnisse vor. Aus diesem Grunde wurden die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Untersuchungen über den Gehalt von Lipiden im Urin bei Gesunden und Kranken vorgenommen.

B LITERATURÜBERSICHT UND AUFGABENSTELLUNG

Wie S. KLAHR¹⁷ 1967 berichtete, stellte man schon um die Jahrhundertwende doppeltbrechende Substanzen im Urinsediment Nephrosekranker fest. Sie hatten das bekannte Malteserkreuz-Aussehen. ZIMMER und Mitarbeiter (Zitat unter ¹⁷) nahmen an, daß diese doppeltbrechenden Fettsubstanzen zum größeren Teil aus Cholesterinestern, zum kleineren Teil aus freiem Cholesterin bestanden. KLAHR¹⁷ untersuchte als erster, ob beim nephrotischen Syndrom außer freiem und verestertem Cholesterin auch andere Fettsubstanzen ausgeschieden werden und konnte Triglyceride, freie Fettsäuren und Phospholipide nachweisen. Er weist darauf hin, daß schon BING und STARUP (Zitat unter ¹⁷) Ende der dreißiger Jahre von einer Beziehung zwischen der Ausscheidung von Eiweiß und Cholesterin im Harn sprach.

Auch er selbst konnte eine gute Korrelation zwischen Harncholesterin und Harn-eiweiß feststellen. In Übereinstimmung mit SCHRADE et al.²⁴ nimmt er an, daß die Fette als Lipoproteine ins Glomerulumfiltrat übertreten. Gestützt auf

die Untersuchungen von SMETANA und WELTMANN (beide Zitate

unter ¹⁷⁾ sowie auf eigene Beobachtungen postuliert er, daß zum Übertritt von Eiweiß und somit auch von Lipiden ein glomerulärer Schaden vorliegen müsse, wofür auch spreche, daß eine nicht nephrotisch bedingte Hypercholesterinämie keineswegs zu einem vermehrten Auftreten von Cholesterin im Urin führe.

In der schon weiter oben angeführten Arbeit berichtet SCHRADE²⁴ außerdem, daß er in der Papierelektrophorese stark eingedickter Urine alle auch im Serum vorhandenen Eiweißfraktionen nachweisen konnte. Ferner gelang ihm der Nachweis von drei Lipoproteidfraktionen, die er entsprechend der Wanderungsgeschwindigkeit den Albuminen und alpha-1-Globulinen zuordnete, während die dritte Fraktion keine Wanderung zeigte. Obwohl er verschiedene Anordnungsmuster dieser Fraktionen fand, waren sie nicht eindeutig gewissen Krankheitsbildern zuzuordnen. Ein weiteres wichtiges Ergebnis dieser Arbeit ist der Nachweis von Lipoproteinen auch im Harn Gesunder.

FLÜGGE¹⁰ geht 1964 in einer Arbeit über Chylurie davon aus, daß es bei Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Intoxikationen, fortgeschrittener Nephritis und Fettembolien in den großen Kreislauf zu Lipurien kommt.

Auch YAMAKAWA²⁶ (1967) erwähnt, daß bislang wenig Untersuchungen der Lipurie durchgeführt wurden und führt dies auf die Schwierigkeit der Bestimmungen zurück, die bei diesem Ausgangsmaterial gegeben sind. Er zitiert GARDNER (1925), BRUGER (1943) und CONINGS (1963), die das Gesamtcholesterin im Urin Gesunder bestimmten und sehr differierende Ergebnisse erzielten. Während GARDNER 2,8 bis 4,2mg Gesamtcholesterin pro 24 Stunden fand, waren es bei BRUGER 0,27 bis 3,88mg pro 24 Stunden. CONINGS gar fand Werte von 480mg $\pm$ 168mg Gesamtcholesterin pro Tag.

YAMAKAWA²⁶ selbst untersuchte die freien Fettsäuren im Urin gaschromatographisch und fand 0,24 bis 1,4mg Gesamtfettsäuren im 24-Stunden-Urin Gesunder. Bei nephrotischen Erkrankungen waren die Gesamtfettsäuren auf 1,3 bis 6,0mg pro 24 Stunden erhöht und bei Diabetikern auf 0,5 bis 2,9mg pro 24 Stunden. Bei nephritischen Erkrankungen ergaben sich keine Unterschiede zu Gesunden.

Nach FRICK¹¹ (1968) entdeckte man schon vor ungefähr einhundert Jahren Cholesterinkristalle im Urinsediment. Er weist darauf, daß die letzten Arbeiten zur Untersuchung des Harncholesterins schon zwanzig Jahre zurückliegen und die Angaben über die gefundenen Mengen bei den einzelnen Autoren sehr differieren. (BRUGER; BLOCH; SOBOTH; BURCHELL; MC LA-GAN. Zitate alle unter ¹¹)

FRICK¹¹ selbst stellte bei seinen Untersuchungen fest, daß die Ausscheidung von Cholesterin bei Kranken mit einem in die Hohlorgane des Harnsystems eingebrochenem malignen Tumor bis zu dreißigmal höher waren als bei anderen Personen.

LAUDAT¹⁸ (1968) gibt einen kurzen Abriß der Entwicklung von Fettuntersuchungen im Urin: Nachdem 1865 MORNER (Zitat unter ¹⁸) Fette hohen Molekulargewichts im Urin gefunden habe, seien bislang nur wenige Untersuchungen veröffentlicht worden. 1943 habe BLOOR (Zitat unter ¹⁸) eine bedeutende Lipurie bei Nephrose festgestellt und 1952 KAYSER und BOLAT (Zitat unter ¹⁸) Normalwerte für die Harncholesterinausscheidung mitgeteilt und Veränderungen dieser Werte in der Schwangerschaft und bei Nierenerkrankungen beobachtet.

KING und BOYCE (Zitat unter ¹⁸) veröffentlichten 1958 Normalwerte der Gesamturinfette, und 1964 untersuchte JESTING (Zitat unter ¹⁸) Urinlipide bei Proteinurie.

LAUDAT¹⁸ selbst untersuchte den Gesamtfettgehalt von 24-Stunden-Sammelurin, sowie die Mengen des Cholesterins, der Triglyceride, der Phospholipide und der freien Fettsäuren. In der Immunelektrophorese wies er nach vorheriger stärkerer Einengung des Urins ein alpha-1-Lipoprotein nach. Schließlich berichtet BRODER⁴ 1969, daß nach seinen Untersuchungen bei Patienten mit Fettstoffwechselstörungen und Intoxikationen eine höhere Lipurie nachzuweisen ist als bei anderen.

1969 untersucht BENITO¹ nach seinen Angaben zum erstenmal das freie Cholesterin im Harn mit "modernen wissenschaftlichen Methoden". Er berichtet, daß im Urin hauptsächlich freies Cholesterin zu finden sei, während die Mengen an glucuronisiertem und verestertem Cholesterin gering seien und zudem proportional der Menge von freiem Cholesterin. Er fin-

det das frei Cholesterin in Schwangerschaft und Kindbett um etwa bis zu siebzimal erhöht.

Es ist also von der Entdeckung doppeltbrechender Fettsubstanzen im Urinsediment gegen Ende des letzten Jahrhunderts bis zu den heutigen hochspezialisierten Untersuchungen der Urinfette eine relativ lange Zeit vergangen. Gemessen an anderen Sachgebieten sind in diesen etwa achtzig Jahren nur wenige Untersuchungen veröffentlicht worden.

Dies erklärt sich zum größten Teil aus den erheblichen methodischen Schwierigkeiten, die das Ausgangsmaterial bietet und auch daraus, daß der Erforschung der Fette und ihres Metabolismus erst in den letzten beiden Jahrzehnten vermehrte Aufmerksamkeit gilt.

Aus der Sichtung der Literatur ergaben sich einige Fragen, deren Beleuchtung diese Arbeit dienen soll.

- 1.) Es sollte geprüft werden, ob ein Lipoproteinnachweis geführt werden kann und ob und in welcher Menge gegebenenfalls Lipoproteinfraktionen auftreten.
- 2.) Mittels gaschromatographischer Untersuchungen sollen Einblicke in die Verteilungsmuster der an den Urinlipiden beteiligten Fettsäuren gewonnen werden.
- 3.) Es soll untersucht werden, inwieweit Triglyceride, Cholesterin und Phospholipide im menschlichen Urin nachzuweisen sind und gegebenenfalls in welcher Menge. Eventuell bestehende Beziehungen zu Krankheitsbildern sollen aufgewiesen und Vergleiche mit einer klinisch gesunden Gruppe angestellt werden.
- 4.) Es gilt, noch einmal zu überprüfen, welche Beziehungen zwischen dem Auftreten von Eiweißen und Fetten im Urin bestehen und inwieweit ein Glomerulumschaden obligatorische Voraussetzung für das Auftreten von Lipoproteinen und Fettsubstanzen im Harn ist. Dazu sollen auch andere, für eine Nierenfunktionsstörung spezifische klinisch-chemische Daten herangezogen werden.
- 5.) Weiterhin soll die Frage nach möglichen Beziehungen

zwischen dem Auftreten von Fetten im Urin und verschiedenen Stoffwechselgrößen behandelt werden.

6.)Die erhaltenen Untersuchungsergebnisse sollen mit den Angaben in der Literatur verglichen werden.

C MATERIAL UND METHODIK

I. MATERIAL

Zu den hier durchgeführten Untersuchungen wurden 24-Stunden-Sammelurin von Kranken der II.Medizinischen Klinik und Poliklinik der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz benutzt.Insgesamt kamen 100 Urine zur Untersuchung.Sie verteilten sich auf die einzelnen Gruppen wie folgt:

- 10 Urine von klinisch gesunden Personen
(7 Frauen,3 Männer, 19-72 Jahre)
- 25 Urine von niereninsuffizienten Personen
(13 Frauen,12 Männer,16-75 Jahre,Serumkreatinin
1,26 - 8,85 mg%)
- 23 Urine von Personen mit manifestem Diabetes mellitus
(19 Frauen,4 Männer,40-76 Jahre,Blutglucose
171 - 504 mg%)
- 23 Urine von Personen mit Leberzirrhose
(5 Frauen,18 Männer,29-66 Jahre,Serumbilirubin
über 1,8 mg/100ml,gamma-GT über 82 U/l,SGPT über
76 U/l)
- 11 Urine von Personen mit dekompensierter Herzinsuffizienz
(7 Frauen,4 Männer,34-73 Jahre)
- 8 Urine von Personen mit malignen Pankreaserkrankungen
(4 Frauen,4 Männer,42-77 Jahre)
- 5 Urine von Personen mit Hyperlipidämien
(4 Frauen,1 Mann,21-64 Jahre,Serumtriglyceride
244 - 1310 mg/100ml,Serumcholesterin 252 - 796 mg
pro 100 ml)

5 Urine von Personen mit suizidalen Barbituratintoxikationen

(3 Frauen, 2 Männer, 23-35 Jahre)

2 Urine von Personen mit aktiver Lungen-Tbc

(2 Männer, 37 und 52 Jahre)

Die Differenz von +12 zur Ausgangszahl von 100 Urinen erklärt sich aus der Tatsache, daß einige Patienten mehrere unterschiedliche Grundleiden aufwiesen. Die Urine der 10 klinisch gesunden Personen dienten zur Kontrolle.

II. METHODIK

1.) Materialaufbereitung

Die 24-Stunden-Harnmenge wurde in zuvor mit Chromschwefelsäure gewaschenen Glasgefäßen gesammelt und 30 Minuten lang bei 4000 U/min zur Abtrennung der geformten und zellulären Bestandteile zentrifugiert, da diese wegen ihrer nicht dem Harn zuzurechnenden Inhaltsstoffe zu Verfälschungen des Ergebnisses hätten führen können. Der Überstand wurde gemessen. Ein aliquoter Teil wurde zur Bestimmung der Konzentration von Kreatinin, Eiweiß, Harnstoff, Harnsäure und anorganischem Phosphat entnommen, ein weiterer aliquoter Teil wurde mit konzentrierter Salzsäure auf pH 4 eingestellt, mit 10%-iger Thymollösung zur Konservierung versetzt und anschließend gefriergetrocknet.

Bei einem Teil der Harnproben sollen elektrophoretische Untersuchungen vorgenommen werden. Diese Proben wurden nach dem Zentrifugieren mit Hilfe von Carbowax (s.u.) angefüllten Dialysierschläuchen auf ca. 1/100 der Ausgangsmenge bei Raumtemperatur eingeengt. (Dialysierschläuche und Carbowax der Fa. Union Carbide Corp., Chicago, Illinois. Size 36/100 FT.)

Die Dialysierschläuche mußten vor Gebrauch für ungefähr 6-8 Stunden in reichlich, mehrfach gewechseltem Aqua bidestillata gewässert werden. Dieser Prozeß war notwendig, um Verunreinigungen, die die späteren Lipidanalysen verfälschen konnten, zu eliminieren. Die Erklärung hierfür ergibt sich aus den Vorversuchen unter Abschnitt D I 2.). Man gelangte schließlich zu einem stark eingeschränkten Volumen

des eingesetzten 24-Stunden-Urins, das wiederum genau gemessen wurde. Hiervon wurde nun 1ml zur Lipid- und Eiweißelektrophorese entnommen. Der Rest kam in große, vorher mit Chromschwefelsäure gereinigte Petryschalen und wurde ebenfalls einem Gefrier Trocknungsprozeß unterzogen.

Als Gefrier Trocknungsrückstand verblieb ein mehr oder weniger gefärbter, teils zäher Rückstand, der aus dem Gefäß ausgekratzt und unter Rückfluß in Chloroform-Methanol 2:1 bei 60°C nach FOLCH^{10a} extrahiert wurde. Der Rückstand wurde insgesamt dreimal der heißen Extraktion unterzogen.

Die jeweiligen Überstände wurden vereinigt und am Rotationsverdampfer zur Trockne gebracht. Der erhaltene Rückstand wurde erneut in einem definierten Volumen Chloroform-Methanol 2:1 gelöst und im Scheidetrichter mit 0,04%-iger wässriger CaCl_2 -Lösung von 1/5 des Volumens versetzt und gewaschen. In ungefähr 12 Stunden bildet sich eine scharfe Trennung zwischen den entstehenden zwei Phasen aus, sodaß die untere Phase (Chloroformphase) gewonnen werden konnte (FOLCH-SPERRY-Extrakt^{10a}). Die obere wässrige Methanolphase mit den wasserlöslichen Stoffen wurde verworfen. (Dazu Vorversuche unter Abschnitt D I 5.)

Der Waschvorgang wurde mehrmals wiederholt bis keine sichtbaren Färbungen mehr auftraten. Anschließend wurde das Lösungsmittel wieder am Rotationsverdampfer bis zur Trockenheit abgedampft und der Rückstand in einem definierten Volumen Chloroform-Methanol 2:1 gelöst. In dem so gewonnenen, mehrfach gereinigten Lipidextrakt wurden Cholesterin, Phosphor und Glycerid-Glycerin bestimmt. Ferner war er die Ausgangssubstanz für die Gaschromatographie.

2.) Cholesterinbestimmung

Das Prinzip der hier verwendeten Reaktion beruht darauf, daß in Eisessig gelöstes Cholesterin nach Zugabe von wässriger FeCl_3 -Lösung und konzentrierter Schwefelsäure durch Oxydation in einen rot-violetten Farbstoff überführt wird. (Methode nach ZAK²⁷)

Im Einzelnen wurde folgendermaßen verfahren: 1ml des Chloroform-Methanol-Extraktes definierten Volumens wurde in ein 10-ml-Reagenzglas gefüllt und im Wasserbad bei 70°C sowie durch anschließendes Überblasen mit Stickstoff völlig vom

Lösungsmittel befreit. Anschließend wurden 3ml Eisessig (Essigsäure 96%) zugegeben und das Reagenzglas zur Lösung der Substanz kurz ins Wasserbad von 70°C gegeben. Danach wurden 2ml Eisen-III-Chlorid-Lösung (0,5% in konzentrierter H_2SO_4) zugefügt und mit einem Glasstab gut gemischt. Der Reaktionsansatz blieb jetzt 45-60 Minuten bei Zimmertemperatur stehen.

Als Standard wurden 50 ug reinen Cholesterins in 3ml Eisessig mitgeführt.

Nachdem die Reaktionszeit von etwa einer Stunde verstrichen war, wurden die Extinktionen des Standards und der Proben bei Filter 546 in 1cm-Mikroküvetten mit dem Eppendorf-Photometer gemessen. Die Berechnung des Cholesteringehaltes wurde nach folgender Formel durchgeführt:

$$\frac{\text{Extinktion Probe}}{\text{Extinktion Standard}} \cdot \text{Konzentration Standard} = \text{Menge in}$$

gamma pro eingesetzter Menge Extrakt

Der Cholesteringehalt wurde entsprechend den Ausgangsvolumina auf die 24-Stunden-Urinmenge beziehungsweise auf 100ml umgerechnet. Alle Analysen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt.

Die Ergebnisse der Quantitativen Cholesterinbestimmung wurden ausgedrückt als Konzentration gamma Cholesterin/100ml, als Gesamtcholesterin im 24-Stunden-Harn in gamma sowie als gamma Cholesterin pro mg Kreatinin im 24-Stunden-Harn. Diese verschiedenen Angaben werden im folgenden als die "Dimensionen" der Gehaltsangaben bezeichnet.

3.) Triglyceridbestimmung

Die hier verwendete Methode der Neutralfettbestimmung beruht auf der enzymatischen Umsetzung ihres Glycerinanteils. (Methode nach EGGSTEIN und KREUTZ⁶) Es wurde die "Biochemica Test-Combination NEUTRALFETT" der Fa. BOEHRINGER, Mannheim, verwendet.

Der einzelne Test wurde wie folgt durchgeführt:

In der Regel wurden 1-3ml des Chloroform-Methanol-Ausgangsextraktes entnommen und in 10ml-Reagenzgläser mit Schliffkolbenverschluß eingefüllt. Das Lösungsmittel wurde im Wasserbad von 70°C und durch anschließendes Überblasen mit Stickstoff völlig entfernt. Der Rückstand wurde nach der

Standardmethode weiterverarbeitet.

Die Berechnung des Glycerid-Glycerins erfolgte nach der Formel:

$$\frac{\Delta E \cdot \text{Vol. K\u00fcv. Ansatz} \cdot \text{Vol. nach Verseif.} \cdot C/M \text{ Ges. Extr.}}{3,3 \cdot 1 \cdot \text{i.d. Test eing. Menge} \cdot \text{z. Verseif. einges. Menge} \cdot \text{Gesamtmenge d. eingeengten Urins} \cdot 100}$$

$$\cdot \text{Gefriergetr. Menge d. eingeengt. Urins} \cdot \text{Menge 24-h-Urin}$$

$$= \mu\text{Mol Glycerid-Glycerin pro 100ml 24-Stunden-Urin}$$

Dabei stellt die Zahl 3,3 im Nenner den Extinktionskoeffizienten von NADH bei 366 nm dar in der Dimension $\text{cm}^2/\mu\text{Mol}$, w\u00e4hrend die Zahl 1 im Nenner die Schichtdicke der verwendeten K\u00fcvette bedeutet.

Da im Falle der Urinneutralfette nicht bekannt ist, welche Fetts\u00e4uren an ihrem Aufbau teilhaben, erfolgte keine Umrechnung von Glycerin auf Triglyceride. Es wurde lediglich angegeben, wieviel μMol Glycerid-Glycerin gefunden wurde. Die aus dem Reaktionsansatz ermittelte Menge Glycerid-Glycerin wurde auf den Gesamtgehalt im 24-Stunden-Urin wie folgt umgerechnet:

$$\frac{\mu\text{Mol}/100\text{ml}}{100} \cdot \text{Menge d. 24-h-Urins} = \mu\text{Mol Glyc.-Glyc.}/24\text{h}$$

Die Ergebnisse der quantitativen Glycerinbestimmung wurden ausgedr\u00fcckt als Konzentration μMol Glycerid-Glycerin pro 100ml, als Gesamt-Glycerid-Glycerin im 24-Stunden-Harn in μMol sowie als μMol Glycerid-Glycerin pro mg Kreatinin im 24-Stunden-Harn. Diese verschiedenen Angaben werden im folgenden als die "Dimensionen" der Gehaltsangaben bezeichnet.

4.) Phosphorbestimmung

Die hier angewendete Methode der Phospholipidbestimmung beruht darauf, da\u00df der Phosphatanteil der Lipide mit Ammoniummolybdat Phosphormolybdat bildet. Durch Reduktion kann dieses in kolloidales Molybd\u00e4nblau \u00fcberf\u00fchrt werden, welches photometrisch bestimmt werden kann. (Methode nach FISKE und SUBAROW⁹) Um zu anorganischem Phosphat zu gelangen, m\u00fcssen die hier vorliegenden organischen Substanzen zun\u00e4chst mit Schwefels\u00e4ure bei 160°C verascht werden. Der entstehende Kohlenstoff wird durch Wasserstoffperoxyd bei eben-

falls 160°C zu CO_2 umgewandelt. Die nach Zugabe von Ammoniummolybdat mit anschließender Reduktion entstehende blaue Farbe ist in der Intensität proportional dem Gehalt an Phosphor.

Bei den Serumphospholipiden ist der Gehalt der Moleküle an Phosphor bekannt, sodaß mittels eines Faktors aus dem Phosphorgehalt der Gehalt des Reaktionsgemisches an Phospholipiden berechnet werden kann. Da die im Urin ausgeschiedenen Phospholipidsubstanzen weder in ihrer Zusammensetzung, noch in ihrem Molekulargewicht bekannt sind, konnte eine solche Umrechnung nicht vorgenommen werden. Es wurde lediglich die enthaltene Menge an Lipidphosphor angegeben.

Im Einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen:

Von den Ausgangsextrakten wurde jeweils 1ml und 0,5ml entnommen und im Wasserbad bei 70°C sowie durch Überblasen mit Stickstoff völlig vom Lösungsmittel befreit. In jedem der verwendeten 10ml-Reagenzgläser wurde dann die Bestimmung durchgeführt. Zu jedem Ansatz kamen 0,5ml 10 n H_2SO_4 . Anschließend lockerer Verschuß durch aufgelegte Glaskugeln. Daran schloß sich im Brutschrank bei 160°C ein vierstündiger Veraschungsprozeß an. Nach Abkühlung wurden zwei Tropfen Perhydrol pro Analyse (Fa. Merck, Darmstadt) zugegeben und das Ganze wiederum im Brutschrank für zwei Stunden einer Temperatur von 160°C ausgesetzt.

Nach Abkühlung schloß sich die Phosphorbestimmung nach der Standardmethode an. Als Leerwert diente eine Probe, bei der keine Ausgangssubstanz eingesetzt wurde und lediglich alle zugehörigen Reagenzien dem beschriebenen Vorgang unterzogen wurden. Als Bezugsgröße für die Berechnung wurde eine Eichlösung mit 1 gamma Phosphor/ml verwendet.

Die Berechnung des Phosphorgehaltes erfolgte nach der Formel:

Extinktion Probe · Konzentration Standard (gamma) =
Extinktion Standard

Phosphor pro in den Test einges. Menge C/M-Extrakt (gamma)

Um den Gehalt an Phosphor in 100ml des 24-h-Urins zu ermitteln, mußte folgende Formel verwendet werden:

E Probe · K Standard (gamma) · C/M Gesamtextr.-Menge (ml)
E Stand. · im Test eingesetzte Menge Extrakt (ml) ·

Gesamtmenge eingeengter Urin (ml) · 100

Menge d. gefriergetr. eingeengt. Urins (ml) · 24-h-Menge Urin
= Phosphor pro 24-h-Urin (gamma/100ml)

Der Gesamtphosphor im 24-h-Urin errechnet sich so:

$$\frac{\text{gamma Phosphor}}{100\text{ml}} \cdot \frac{1}{100} \cdot \text{Menge 24-h-Urin} = \text{gamma Phosphor}/24 \text{ h}$$

Die Ergebnisse der quantitativen Phosphorbestimmung wurden ausgedrückt als Konzentration gamma Phosphor pro 100ml, als Gesamt-Phosphor im 24-Stunden-Harn in gamma, sowie als gamma Phosphor pro mg Kreatinin im 24-Stunden-Urin. Diese verschiedenen Angaben werden im folgenden als die "Dimensionen" der Gehaltsangaben bezeichnet.

5.) Dünnschichtchromatographie und Gaschromatografie

Die Trennung von Cholesterin, Cholesterinestern, Triglyceriden und Phospholipiden erfolgte dünn-schichtchromatographisch auf Kieselgelplatten in dem Fließmittel Chloroform/Methanol/Wasser im Verhältnis 65:25:4. Es fanden DC-Fertigplatten der Fa. Merck, Darmstadt, Verwendung. Die einzelnen Banden wurden unter UV-Licht identifiziert, ausgekratzt, mit Chloroform/Methanol 2/1 mehrmals extrahiert und danach mit 5%-iger methanolischer Schwefelsäure umgeestert.

Anschließend wurde das Fettsäuremuster durch Gaschromatographie analysiert. (Gerät der Fa. Packard, Flammenionisationsdetektor, Arbeitstemperatur 165°C, Säulenfüllung DEGS auf Kieselgur 15%, Trägergas Argon 60-80ml min) Die einzelnen Fettsäuren wurden anhand von Referenzsubstanzen identifiziert, die Berechnung der relativen Anteile der einzelnen Fettsäuren geschah nach dem Dreiecksverfahren.

6.) Agarose-Gel-Elektrophorese

Zur Herstellung der Agarose-Gel-Platten wurde der Inhalt eines Gläschens Agarose-Trockensubstanz (0,8g, Fa. Serva, Heidelberg) durch Schütteln in 100ml Aqua bidestillata verteilt und durch Aufkochen gelöst. Das Gel wurde im Wasserbad bei 50°C flüssig gehalten und mit 1ml Rinderalbumin versetzt.

Auf einer Wasserkühlung war nach dem Gießen der Platten der Agar nach etwa 10 Minuten erstarrt, sodaß mit einer Stanze an einer Schmalseite Schlitzte von 1cm Länge und 2mm Breite gestochen werden konnten. In jeden der Startschlitzte wurden dann 30 Mikroliter des eingedickten Urins

der Elektrophoreseplatte wurde in ein gesondertes Startloch gefärbtes Albumin eingesetzt. Es diente zur Kontrolle der Wanderung während der Durchführung.

In die mit Barbituratpufferlösung gefüllten Wannen des Elektrophoresegerätes wurden dann die Elektrophoresekästchen so eingesetzt, daß die Startseite zur Anode gerichtet war. Nach Einschalten des Gleichstroms von 160 V betrug die Laufzeit unter Wasserkühlung etwa 90 Minuten. Danach wurden die noch in den Elektrophoresekästchen liegenden Platten mit aufgegossener 5%-iger Essigsäure für mindestens 20 Minuten fixiert und anschließend gründlich unter Leitungswasser gespült. Nachdem die Platten aus den Kästchen herausgelöst waren, wurden sie zuerst über Nacht in Aqua bidestillata gewässert und dann im Brutschrank bei 70°C über 6-8 Stunden getrocknet.

Daran schloß sich die Fettfärbung an, indem die Platten für 90 Minuten mit gefilterter Äthanolischer Sudanschwarzlösung bedeckt wurden, um anschließend mit 60-70%-igem Äthanol entfärbt zu werden. Bei dieser Methode wird das Agarose-Gel völlig vom Farbstoff befreit bis auf jene Stellen, die Lipidsubstanzen enthalten, sodaß gewanderte Fraktionen klar zutage treten. Ein Trocknungsprozeß im Ventilatorschrank unter nassem Filterpapier schloß sich an.

Sollte eine Eiweißfärbung vorgenommen werden, wurden die Platten nach der Elektrophorese über Nacht in Barbitarpufferlösung von pH 8,6 eingelegt und später im Brutschrank bei 50°C getrocknet. Danach wurden sie für 10 Minuten mit Amidoschwarz bedeckt und hinterher in einer Waschlösung aus 13,6g Natriumacetat und 60ml 99%-iger Essigsäure mit Aqua bidestillata aufgefüllt auf 1 Liter entfärbt. Die Waschlösung mußte dabei mehrfach gewechselt werden. Die Färbung hielt sich hierbei nur in jenen Bereichen, die Eiweißsubstanzen enthielten. Anschließend wurden die Platten wieder unter feuchtem Filterpapier im Luftstrom getrocknet.

7.) Immunelektrophorese

In unserem Fall wurden als Antikörper ein anti-alpha-1-Lipoprotein (Behringwerke, Marburg, RCG 04) und ein anti-

beta-Lipoprotein (Behringwerke, Marburg, RCG 04) verwendet. Durchführung geschah nach dem üblichen Standardverfahren.

8.) Statistische Methodik

Alle Daten und Analysenergebnisse wurden auf Lochkarten übertragen und im Institut für Medizinische Dokumentation und Statistik (Direktor Prof. Dr. Dr. S. Koller) statistisch aufgearbeitet. Errechnet wurden: Mittelwerte mit Standardabweichungen sowie Korrelationen zwischen den verschiedenen Variablen. Frau Dipl. Math. D. Müller sei für ihre freundliche Hilfe bei der Durchführung der statistischen Bearbeitung bestens gedankt.

D UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

I VORVERSUCHE ZUR ENTWICKLUNG DER METHODIK

1.) Proportion der Dialysierschläuche

In einigen Versuchen mit Wasser und Urinproben erwies es sich als zweckmäßig, Dialysierschlauchstücke von ca. 1m Länge zu verwenden, die zu etwa $\frac{1}{5}$ mit Carbowax gefüllt waren. Je nach Menge des Ausgangsmaterials wurden dann bei Bedarf mehrere meist zeitlich nacheinander verwendet, bis das gewünschte Einengungsergebnis erreicht war.

2.) Verunreinigungen der Dialysierschläuche

In weiteren Versuchen wurde geprüft, inwieweit die Dialysierschlauchware, so wie sie geliefert wurde, mit Substanzen behaftet war, die später die Fettbestimmungen beeinflussen konnten. Zu diesem Zweck wurden 4 Schlauchstücke von jeweils 1m Länge in Aqua bidestillata 6 Stunden gewässert und anschließend mit Carbowax zu $\frac{1}{5}$ gefüllt. Zwei davon dienten zum Einengen von je 400ml Aqua bidestillata, die zwei anderen zum Einengen von je 400ml Leitungswasser. Es zeigte sich, daß die Werte für Cholesterin zwischen 10,7 und 16,4 gamma/100ml lagen und somit sowohl für Leitungswasser als auch für Aqua bidestillata im Bereich der Nullwertfehlerabweichung.

Für die Triglyceride ergaben sich Werte zwischen 0,05 und 0,08 uMol/100ml. Auch sie lagen damit innerhalb der Nullwertfehlerabweichung.

Für die Phosphorkonzentration wurden zwar ebenfalls sehr niedrige Werte festgestellt, (zwischen 6,2 und 20,2 gamma pro 100ml) es war jedoch anhand der späteren eigentlichen Untersuchungen zu erkennen, daß sie eben noch in den unteren Bereich des Phosphorgehaltes mancher Urine hineinreichten. Es zeigte sich naturgemäß ferner, daß die Versuche mit Leitungswasser gegenüber denen mit Aqua bidestillata eine wesentlich höhere Konzentration an Phosphor aufwiesen. In einem weiteren Versuch wurden 6m Dialysierschlauch eine Stunde lang in 400ml Aqua bidestillata eingelegt und gewässert. Danach wurde die Spülflüssigkeit gefriergetrocknet. Die genaue Hälfte der nach dem Gefrieretrocknungsprozeß erhaltenen Substanzen wurde in C/M 2:1 gelöst und den Bestimmungen unterzogen. Es wurden dabei 83,7 gamma/100ml Cholesterin, 10,0 gamma/100ml Phosphor und 6,16 uMol/100ml Triglyceride gefunden.

Die andere Hälfte des oben erwähnten Rückstandes nach Gefrieretrocknung von Dialysierschlauchspülwasser wurde für zwei weitere Versuche verwendet. Es wurde in 30ml C/M 2:1 gelöst und in einen Schütteltrichter gefüllt. Sodann wurde diese Lösung mit 1/5 ihres Volumens, hier also 6ml 0,04% - iger CaCl_2 -Lösung versetzt und intensiv durchgeschüttelt. Über Nacht bildet sich eine klare Trennschicht zwischen einer wässrigen oberen und einer nichtwässrigen unteren Phase aus. Mit beiden Phasen wurden die Bestimmungen durchgeführt.

Es ergaben sich in der oberen Phase 31,6 gamma/100ml Cholesterin, 5,78 gamma/100ml Phosphor und 8,33 uMol/100ml Triglyceride.

In der unteren Phase fanden sich 62,7 gamma/100ml Cholesterin, 4,34 gamma/100ml Phosphor und 6,34 uMol/100ml Glycerid-Glycerin.

3.) Beeinflussung der Versuche durch Carbowax

Mittels eines weiteren Versuches sollte geklärt werden, inwieweit Carbowax selbst, sollte es einmal austreten, Einfluß auf die Bestimmungen haben konnte. Zu diesem Zweck wurde 1g Carbowax in 10ml C/M 2:1 gelöst und diese Lösung dann den Bestimmungen unterzogen. Es zeigte sich dabei, daß Carbowax instande ist, die Bestimmung von Cholesterin eben-

so wie des Phosphors und der Glycerid-Glycerine stark zu verfälschen. Wir fanden 34,2 gamma Cholesterin pro Gramm Carbowax, 95,1 gamma Phosphor und 0,6 uMol Glycerid-Glycerin pro Gramm Carbowax.

4.) Konservierung der Urine

Da der Urin während der Dialysierphase bis zu drei Tagen stand und so eine bakterielle Besiedelung stattfinden konnte, mußte er mit einem Desinfizienz versetzt werden. Dazu diente eine wässrige 10%-ige Thymollösung, von der durchschnittlich 5ml vor dem Dialysieren den Urinen zugegeben wurde. Ferner wurde mit HCl auf pH 4 eingestellt. Zwei der so behandelten Urine wurden vor Beginn der Eindickung sowie zwei Tage danach bakteriologisch untersucht. Es zeigte sich, daß keine Besiedlung mit Bakterien stattgefunden hatte.

5.) Herstellung des gereinigten FOLCH-SPERRY-Extraktes

Da der 24-Stunden-Sammelurin lediglich eingengt und gefriergetrocknet wurde, waren in ihm naturgemäß noch wasserlösliche Salze und Farbstoffe enthalten. Der in C/M 2:1 nicht lösliche Teil dieser Rückstände wurde verworfen. Damit schied schon ein Teil der wasserlöslichen Substanzen aus. Ein anderer Teil dieser Stoffe, vor allem Farbstoffe, ging aber in den C/M-Extrakt über. Um alle Substanzen, insbesondere Phosphorionen und Farbstoffe, welche die späteren Bestimmungen beeinflussen hätten, mit Sicherheit zu eliminieren, wurden einige weitere Versuche angestellt. Nach heißer Extraktion des Gefrietrocknungsrückstandes bei 60°C wurde der gewonnene C/M-Extrakt am Rotationsverdampfer zur Trockenheit gebracht. Der Rückstand wurde in definiertem Volumen C/M 2:1 gelöst und mit genau 1/5 des Volumens 0,04%-iger wässriger CaCl_2 -Lösung versetzt, in einen Scheidetrichter gefüllt und intensiv geschüttelt. Es zeigte sich, daß ein erhebliches Maß an Urinfarbstoff in die entstandene wässrige obere Phase übergetreten war, ohne daß die untere Phase völlig entfärbt wurde. Die untere Phase wurde abermals gewonnen, eingedampft und erneut in C/M aufgenommen, um den Trennungsvorgang im Scheidetrichter zu wiederholen. Dies wurde solange durchgeführt,

bis in der oberen wäßrig-methanolischen Phase keine sichtbare Färbung mehr auftrat. Bei der Prüfung mit Ammoniummolybdat und Silbernitrat ließen sich dann in der oberen Phase keine Chlor- und Phosphationen mehr nachweisen.

Dadurch stand fest, daß der C/M-Extrakt im Scheidetrichter solange mit CaCl_2 -Lösung ausgewaschen werden mußte, bis in der oberen Phase keine Färbung mehr auftrat. So war gesichert, daß in der unteren Phase keine anorganischen Ionen oder andere wasserlöslichen Substanzen mehr enthalten waren. Auch nach Durchführung dieses Prozesses trat in manchen Fällen in der unteren Phase noch eine leichte Färbung auf, welche von nicht wasserlöslichen Farbstoffen herrühren mußte. Die in diesem wiederholt gereinigten Extrakt durchgeführten Bestimmungen von Cholesterin, Glycerid-Glycerin und Phosphor deckten sich in ihren Ergebnissen mit jenen Bestimmungen, die in einem Extrakt durchgeführt wurden, der nach Eintritt der Farblosigkeit der oberen Phase noch mehrmals im Scheidetrichter ausgeschüttelt wurde. Dadurch war erwiesen, daß keine der zu bestimmenden Substanzen durch den Ausschüttelvorgang verloren ging und daß das Ausschütteln über die Farblosigkeit der oberen Phase hinaus keinen Effekt hatte.

6.) Versuch mit Aktivkohle zur Entfärbung und Entsalzung
Bei zwei weiteren Versuchen wurde der aus dem Gefrier-trocknungsrückstand gewonnene C/M-Extrakt über Aktivkohle gefiltert, um zu untersuchen, ob auf diesem wesentlich einfacheren und weniger aufwendigen Wege ebenfalls eine Entfärbung und Entsalzung möglich war.

Dabei wurde die Färbung des Extraktes zwar abgeschwächt, es stellte sich jedoch heraus, daß bei wiederholtem Filtern über Aktivkohle die zu bestimmenden Substanzen stetig abnahmen, ohne daß ein Punkt erreicht wurde, bei dem keine Veränderung der Werte mehr stattfand. Daraus konnte gefolgert werden, daß beim Filtern über Aktivkohle dem Extrakt auch Cholesterin, Glycerid-Glycerin und Phosphor entzogen wurde, sodaß diese Methode nicht benutzt werden konnte.

7.) Zusammenfassung der Ergebnisse

Aus 1.) ergibt sich eine Dialysierschlauchlänge von einem Meter zu $1/5$ mit Carbowax gefüllt als praktikabelste Proportion zur Einengung der Urine.

Aus 2.) folgert, daß die Dialysierschlauchrohware besonders im Bereich der Phosphorionen und des Glycerid-Glycerins Verunreinigungen aufweist, die nur durch Waschung über Stunden in mehrfach gewechseltem Aqua bidestillata beseitigt werden können.

Aus 3.) folgert, daß eventuell austretendes Carbowax die Bestimmungen von Cholesterin, Glycerid-Glycerin und Phosphor verfälschen kann. Das Einfüllen in die Dialysierschläuche hat also sehr sorgfältig zu erfolgen, um eine Verschleppung in den zu dialysierenden Urin zu vermeiden. Ferner muß der Verschluß der Schläuche absolut dicht sein.

Das Carbowax wird deshalb mittels eines Trichters mit langem Stutzen eingefüllt und jeder Kontakt mit der Ausßenfläche der Schläuche vermieden. Der Verschluß erfolgt durch dreifaches Verknoten jedes Schlauchendes, wobei zwischen die einzelnen Knoten ein Abstand von 1cm gelegt wird.

Aus 4.) wird ersichtlich, daß ein Versetzen der Urine mit wässriger 10%-iger Thymollösung nach vorherigem Einstellen auf pH 4 eine bakterielle Besiedlung verhindert.

Aus 5.) und 6.) ergibt sich, daß eine Reinigung der Gefrier-trocknungsrückstände durchgeführt werden muß, um wasserlösliche Verfälschungen zu eliminieren.

Als Methode empfiehlt sich dabei das mehrfache Ausschütteln des C/M-Extraktes mit $1/5$ des Volumens an wässriger CaCl_2 -Lösung 0,04%-ig bis zur Farblosigkeit der oberen Phase.

II. ELEKTROPHORESE UND IMMUNELEKTROPHORESE

1.) Lipid-, Eiweiß- und Immunelektrophorese

Um nachzuprüfen, ob im Urin Kranker Fettsubstanzen enthalten sind, die im elektrischen Feld wandern, wurden insgesamt 46 Urine der Agarose-Gel-Elektrophorese unterzogen.

Als Ausgangssubstanz diente dabei ein Teil des mittels Carbowax auf jeweils 1/100 eingeeengten 24-Stunden-Urins. Das Verfahren der Elektrophorese war dabei so wie in C II 6.) beschrieben und deckte sich weitgehend mit dem Verfahren, das bei der Durchführung der Serum-Lipid-Elektrophorese angewendet wird. Da sich bei den ersten vierzehn Versuchen, bei denen jeweils 30 Mikroliter eines Gemisches aus eingedicktem Urin und flüssigem Agarose-Gel im Verhältnis 1:1 am Start eingesetzt wurde, nach der Fettfärbung weder eine Wanderung irgendwelcher Substanzen zeigte, noch eine Substanz am Startpunkt angefärbt werden konnte, wurde dazu übergegangen, größere Mengen des oben beschriebenen Gemisches am Startpunkt aufzutragen. Aber obwohl dabei bis zu 250 Mikroliter am Start eingesetzt wurden, ließ sich bei allen weiteren Versuchen keine Substanzen nachweisen, die mittels Fettfärbung anfärbbar waren. Daraufhin wurden einige Versuchsbedingungen variiert.

So wurden die Platten einmal unter Zusatz von 10%-igem Rinderalbumin gegossen, einmal ohne diesen Zusatz. Ferner wurde für den Einsatz das Verhältnis von Urin zu Agarose-Gel zunehmend verändert, bis nur noch reiner eingedickter Urin eingesetzt wurde. Dabei wurde einmal Agarose mit Rinderalbuminzusatz, einmal ohne diesen Zusatz verwendet. Das Gleiche gilt für den Versiegelungsagar der Auftragsstellen. Trotz all dieser Variationen war eine Wanderung von fetthaltigen Substanzen nicht nachweisbar. Bei jedem dieser Versuche wurde eine Probe des Urins der Agarose-Gel-Elektrophorese zur anschließenden Eiweißfärbung unterzogen. Dabei ließen sich bei jedem Eiweiß enthaltenden Urin eine schnellwandernde und bei manchen eine mittelschnell wandernde Bande anfärben, sowie bei fast allen eine Substanz, die um den Startpunkt liegen geblieben war. Um die Ergebnisse zu überprüfen, wurden zehn Proben eingeeengter Urine im Zentrallabor der Universitätsklinik Mainz (Prof. Dr. W. Prellwitz) einer Immunelektrophorese gegen anti- α_1 -Lipoprotein und anti- β -Lipoprotein unterzogen. Es traten keine Präzipitationsbanden auf, sodaß auch hier α_1 - und β -Lipoproteine nicht nachgewiesen werden konnten.

2.) Zusammenfassende Ergebnisse

In der Agarose-Gel-Elektrophorese läßt sich bei keiner der 46 Proben eingengter Urine mittels Fettfärbung eine Substanz anfärben, die im elektrischen Feld eine Wanderung zeigt. Es läßt sich auch mittels Fettfärbung keine Substanz am Auftragungsort nachweisen. Auch unter vielfach variierten Versuchsbedingungen ist keine Änderung dieses negativen Ergebnisses zu erreichen.

Die bei 10 Proben eingengter Urine durchgeführte Immunelektrophorese mit anti-alpha₁-Lipoprotein und anti-beta-Lipoprotein konnte keine den Antikörpern entsprechenden Substanzen nachweisen.

Demnach kann auf Grund der durchgeführten Untersuchungen gefolgert werden, daß mit der vorliegenden Methodik keine Lipoproteine im Harn nachzuweisen sind.

Bei Eiweiß enthaltenden Urinen ist in der Agarose-Gel-Elektrophorese immer eine schnell wandernde Bande sowie eine Substanz um den Startpunkt herum mittels Eiweißfärbung nachzuweisen. In manchen Fällen zeigte sich noch eine dazwischenliegende mittelschnell wandernde Bande.

III. GASCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN

1.) Fettsäuren der Urin triglyceride bei Gesunden

Insgesamt wurden 5 Urine gaschromatographisch untersucht. Es sollte die Kettenlänge der an ihren Fettbestandteilen beteiligten Fettsäuren bestimmt werden. Die Durchführung der Untersuchung gestaltete sich wie unter C II.5.) beschrieben.

Es zeigte sich, daß bei den Fettsäuremethylestern der Triglyceridfraktion immer Kettenlängen von C₁₁, C₁₂, C₁₄, C₁₅, C₁₆, C_{16:1}, C₁₇, C_{17:2}, C₁₈, C_{18:1} auftraten. Die Kettenlänge C₁₃ und C_{20:4} trat in jeweils einem Fall auf. C_{18:3} und C₂₀ konnten in je zwei Fällen nachgewiesen werden. Bei vier Urinen fand sich C_{18:2}.

Mengenmäßig am stärksten vertreten waren zwei Fettsäuren, nämlich Palmitinsäure (C₁₆) mit einem relativen Anteil zwischen 27,80 und 45,11% und Ölsäure (C_{18:1}) zwischen 16,57 und 40,72%.

Den geringsten Anteil hatten C_{11} (0,09-0,57%), C_{12} (0,31-0,94%), C_{13} (0,52%), C_{15} (0,50-2,22%) und C_{17} (0,37-2,24%). Die übrigen lagen in ihrem Anteil dazwischen. (Siehe Tab.1)

2.) Fettsäuren der Urinphospholipide bei Gesunden

Bei dieser Untersuchung waren insgesamt nur sieben Fettsäuren bei allen Urinen nachweisbar. Es waren die Kettenlängen C_{14} , C_{15} , C_{16} , $C_{16:1}$, $C_{17:2}$, C_{18} und $C_{18:1}$. In vier Fällen traten C_{17} und $C_{18:2}$ auf, während C_{12} bei drei Urinen nachweisbar war. In nur einem Fall war $C_{18:3}$ anzutreffen. Mengenmäßig am stärksten waren C_{16} (14,34 - 42,73%) und $C_{18:1}$ (11,01 - 24,24%) vertreten. Die geringste Beteiligung zeigten C_{11} (0,42 - 0,97%) und C_{12} (0,43 - 1,07%), während die übrigen dazwischen lagen. (Siehe Tab.1)

3.) Fettsäuren der Urincholesterinester bei Gesunden

Hier konnten acht Fettsäuren bei allen untersuchten Urinen festgestellt werden. Es waren dies C_{14} , C_{15} , C_{16} , $C_{16:1}$, $C_{17:2}$, C_{18} , $C_{18:1}$ und $C_{18:2}$. In vier Fällen traten C_{11} und C_{17} auf, während C_{12} in drei Fällen gefunden wurde. Nur jeweils einmal waren C_{13} , C_{20} und $C_{20:4}$ nachzuweisen.

Den Hauptanteil bestritten C_{16} (18,87 - 33,20%), $C_{18:1}$ (14,20 - 35,84%) und $C_{18:2}$ (4,27 - 19,98%). Den geringsten Anteil wiesen C_{11} (0,25 - 3,45%) und C_{12} (0,34 - 1,53%) auf. Alle übrigen lagen mit ihren Anteilen dazwischen. (Siehe Tab.1)

4.) Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei den im Urin Gesunder auftretenden Triglyceriden beteiligen sich Fettsäuren einer Kohlenstoffkettenlänge von C_{11} - C_{20} am Molekulaufbau, darunter auch bis zu vierfach ungesättigte. Am häufigsten vertreten sind Palmitinsäure (C_{16}) und Ölsäure ($C_{18:1}$).

An den Urinphospholipiden beteiligen sich ebenfalls Fettsäuren der Kettenlängen C_{11} - C_{20} . Auch hier sind einfach bis mehrfach ungesättigte zu finden. Die häufigsten Vertreter sind auch hier Palmitinsäure (C_{16}) und Ölsäure ($C_{18:1}$). An den Cholesterinestern der untersuchten Urine sind wiederum Fettsäuren der Kettenlänge C_{11} - C_{20} beteiligt. Auch hier finden sich einfach bis mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Den größten Anteil am Aufbau haben drei Säuren, Palmitinsäure, Ölsäure und Linolsäure ($C_{18:2}$).

		TG-FSME in % Anteil am Gesamtgehalt															
Nr.	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C _{16:1}	C ₁₇	C _{17:2}	C ₁₈	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C ₂₀	C _{20:4}	Rest	
1	0,57	0,66	0,52	4,27	1,63	27,80	6,58	0,82	12,96	9,37	19,22	2,16	4,25	4,93	-	2,35	
2	0,38	0,94	-	4,16	2,22	45,11	4,21	8,72	5,81	9,49	16,57	-	-	-	-	1,88	
3	0,47	0,88	-	4,87	1,43	33,38	6,62	2,24	6,69	8,86	28,23	2,94	-	-	-	3,39	
4	0,09	0,31	-	2,22	0,50	36,28	6,12	1,51	1,18	6,30	40,72	4,34	-	-	-	0,38	
5	0,37	0,57	-	2,78	0,78	33,00	5,78	0,37	4,27	7,08	34,80	1,06	1,14	1,36	4,05	2,69	
PL-FSME in % Anteil am Gesamtgehalt																	
1	0,97	1,07	1,22	4,49	3,07	20,78	3,77	0,99	18,32	9,99	14,24	3,52	6,95	5,38	-	5,27	
2	0,42	0,86	-	4,04	1,22	42,73	4,80	5,98	10,45	14,00	12,12	-	-	-	-	3,32	
3	-	-	1,22	1,47	1,51	34,57	3,55	3,26	2,45	16,35	24,24	11,34	-	-	-	-	
4	-	-	-	1,32	0,54	29,32	4,65	0,79	4,63	13,15	22,25	8,08	-	2,23	8,20	4,79	
5	-	0,43	-	39,50	0,63	14,34	2,80	-	12,57	5,91	11,01	5,81	-	-	4,83	2,10	
CE-FSME in % Anteil am Gesamtgehalt																	
1	3,45	-	2,52	5,42	3,90	24,14	5,19	-	9,94	8,20	14,20	6,23	10,06	-	-	5,96	
2	0,25	0,48	-	3,04	0,70	29,58	7,69	2,46	4,47	5,73	28,12	6,15	-	-	7,39	3,86	
3	-	-	-	2,42	0,55	33,20	7,38	5,83	2,59	4,00	24,46	18,57	-	-	-	0,95	
4	0,55	0,34	-	2,43	0,86	22,37	8,61	0,52	3,47	3,58	35,84	19,98	-	-	-	1,38	
5	1,24	1,53	-	5,63	3,38	18,87	6,08	1,47	11,96	7,67	18,15	4,27	4,64	4,05	-	10,96	

Tab.1 : Fettsäuremuster der Triglyceride (TG), der Phospholipide (PL) und der Cholesterinester (CE) der Urnlipide bei Gesunden. FSME = Fettsäuremethylester, n = 5

IV. LIPIDKONZENTRATION UND AUSSCHIEDUNG IM 24-STUNDEN-URIN

1.) Glycerid-Glycerin

a) Laborergebnisse

Die Ausscheidungsmengen von Glycerid-Glycerin bei den verschiedenen Gruppen sind in Tab.2 zusammengestellt. Graphische Darstellung siehe Abb.1.

	n	$\mu\text{Mol Glyc-Glyc}$ 100 ml Urin	$\mu\text{Mol Glyc-Glyc}$ 24 h	$\mu\text{Mol Glyc-Glyc}$ mg Kreatinin iU
Normal- personen	10	0,0440 $\pm$ 0,0143	0,7440 $\pm$ 0,4608	0,0005 $\pm$ 0,0003
Nieren- insuff.	25	0,2952 $\pm$ 0,3843	2,7583 ^x $\pm$ 2,9568	0,0036 $\pm$ 0,0063
Diabetes	23	0,2271 $\pm$ 0,2298	27,0033 ^x $\pm$ 11,4464	0,0045 $\pm$ 0,0072
Leber- zirrhose	23	0,3062 $\pm$ 0,3217	3,3519 ^x $\pm$ 3,1348	0,0057 ^x $\pm$ 0,0068
Herz- insuff.	11	0,3440 $\pm$ 0,2029	53,6070 ^{xx} $\pm$ 16,4293	0,0026 ^x $\pm$ 0,0027
Pankreas- carcinom	8	0,2638 $\pm$ 0,1480	3,3873 ^{xx} $\pm$ 3,2260	0,0040 ^x $\pm$ 0,0037
Hyper- lipid- ämie	5	0,1820 $\pm$ 0,1486	2,2960 ^{xx} $\pm$ 2,7308	0,0018 ^x $\pm$ 0,0016
Intoxi- kation	5	0,1180 $\pm$ 0,0517	4,2560 $\pm$ 4,4748	0,0038 $\pm$ 0,0054
Lungen- Tbc	2	0,0950 $\pm$ 0,0495	3,2550 $\pm$ 1,5486	0,0053 $\pm$ 0,0015

Tab. 2 : Ausscheidung von Glycerid-Glycerin im Urin der verschiedenen Gruppen.

x = $p < 0,05$ im Vergleich zu Normalpersonen

xx = $p < 0,01$ im Vergleich zu Normalpersonen

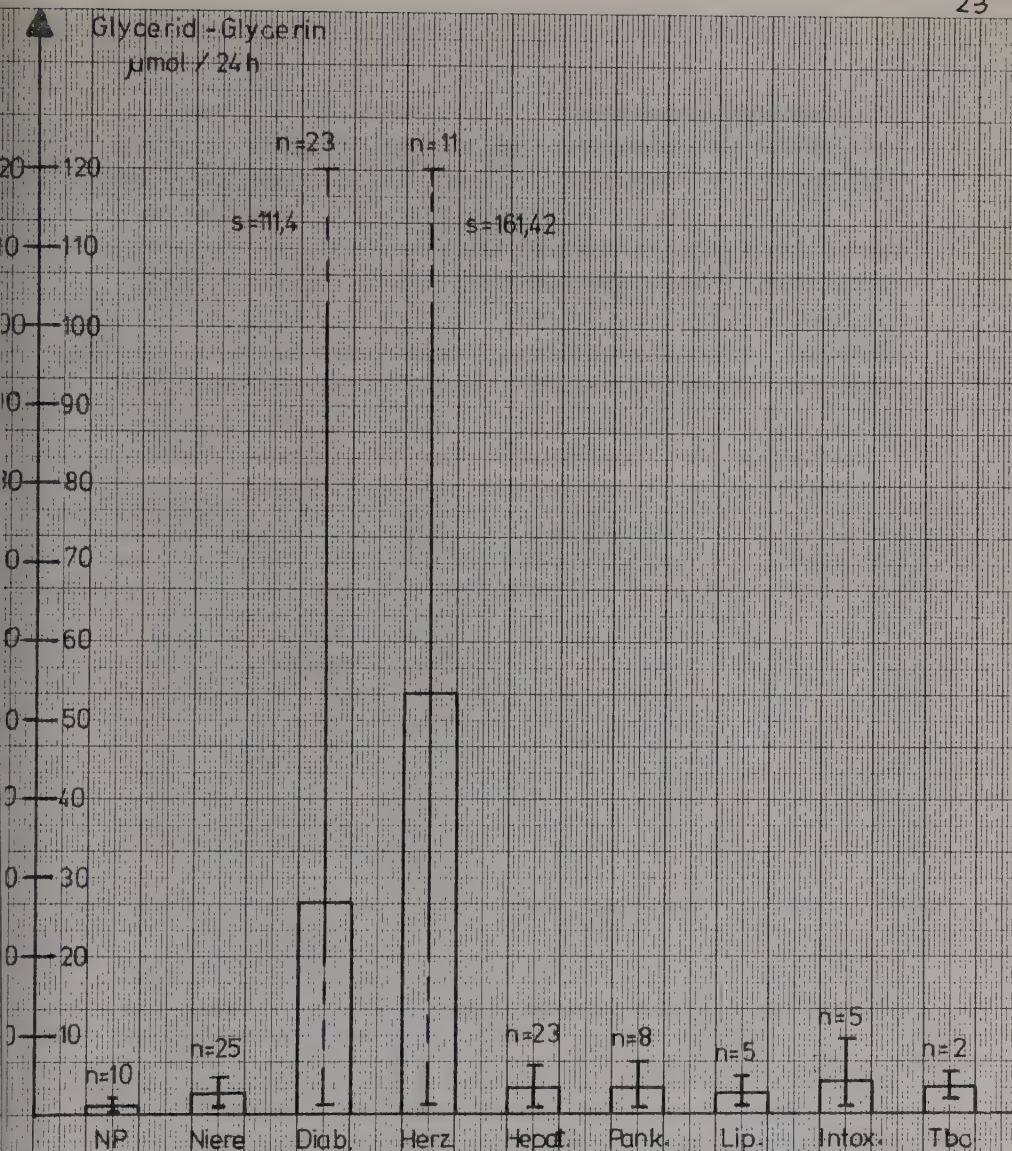


Abb. 1: Glycerid - Glycerin - Ausscheidung im 24-h-Urin in den einzelnen Gruppen Mittelwerte $\pm$ St. Abw.

Abkürzungen:

NP = Normalpersonen
Diab. = Diabetes mellitus
Hepat. = Leberzirrhose
Lip. = Hyperlipidämie
Tbc. = Lungentuberkulose

Niere = Niereninsuffizienz
Herz = Herzinsuffizienz
Pank. = maligne Pankreaserkrankungen
Intox. = Intoxikationen

b) Statistische Analysen

Die Prüfung auf statistisch gesicherte Unterschiede in der Ausscheidung des Glycerid-Glycerins ergab folgende Ergebnisse:

Die Gesamtmenge von Glycerid-Glycerin im 24-h-Urin war bei den Gruppen "Niereninsuffizienz", "Leberzirrhose", "Pankreaskarzinom" und "Intoxikation" statistisch auffällig ($p < 0,05$) höher als bei Normalpersonen. Die Konzentration des Glycerid-Glycerins in 100ml Urin zeigte sich auf dem 5%-Niveau auffällig höher bei den Gruppen "Niereninsuffizienz", "Diabetes mellitus" und "Leberzirrhose" im Vergleich zum Normalkollektiv. Auf dem 1%-Niveau signifikant höher war die Konzentration bei den Gruppen "Herzinsuffizienz", "Pankreaskarzinom" und "Hyperlipidämie" gegenüber den Normalpersonen. Das auf das Urinkreatinin bezogene Glycerid-Glycerin des Urins war im Vergleich zum Normalkollektiv auf dem 5%-Niveau auffällig höher bei den Gruppen "Leberzirrhose", "Herzinsuffizienz", "Pankreaskarzinom" und "Hyperlipidämie". Die Gruppe der Lungentuberkulose wurde zur Signifikanzrechnung nicht herangezogen, da die Fallzahl zu gering war. Auffallend sind die teilweise erheblichen Streuungen um die Mittelwerte, was auf die enorme Schwankungsbreite der Glyceridausscheidung hinweist.

Mit Hilfe korrelationsstatistischer Analysen wurden die Zusammenhänge zwischen Glycerid-Glycerinausscheidung im Urin mit anderen Harnbestandteilen sowie mit verschiedenen Substanzen des Blutserums untersucht. Dies geschah gesondert für die verschiedenen "Dimensionen" und gesondert für jede Krankheitsgruppe bzw. die Normalpersonen. Dabei ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen der Glycerid-Glycerinausscheidung und der Eiweißausscheidung im Harn, lediglich waren beide Variable statistisch auffällig korreliert ($p < 0,05$) im Falle der Pankreaskarzinome und der Intoxikationen. Bei der Gruppe "Normalpersonen" fanden sich durchweg positive signifikante Korrelationen zwischen der Menge an Glycerid-Glycerin und den beiden anderen Lipiden im 24-h-Harn. (Tab. 6 u. 7 u. 10 u. 16) Bei den "Hyperlipidämien" fallen dagegen signifikante negative Korrelationen zwischen Glycerid-Glycerin- und Cholesterinausscheidung auf. (Tab. 6 u. 7)

Da zudem noch geklärt werden sollte, ob eine Nephropathie im weitesten Sinne Einfluß auf das Auftreten von Glycerid-Glycerin im Urin habe, wurden das Serumkreatinin, der Serumharnstoff und die Kreatininclearance als Indikatoren einer Nierenfunktionsstörung mit den verschiedenen Meßgrößen des Glycerid-Glycerins im Urin korreliert. Auch dies geschah wieder getrennt für die einzelnen Krankheitsgruppen und die Normalpersonen.

Die statistisch auffälligen ($x = 5\%$ -Niveau) und gesicherten ($xx = 1\%$ -Niveau) Ergebnisse sind in Tab. 3 aufgeführt.

Korrelation zwischen	Nieren- insuff.	Leber- zirrhose	Hertz- insuff.	Hyper- lipidämie
$\mu\text{Mol Glyc. - Glyc. i.U.}$ pro mg Kreatinin i.U. und mg% Kreatinin i.S.	0,7751 ^{xx}	0,4722 [*]		
$\mu\text{Mol Glyc. - Glyc. i.U.}$ pro mg Kreatinin i.U. und mg% Harnstoff i.S.	0,7972 ^{xx}			
$\mu\text{Mol Glyc. - Glyc.}$ pro 24 h und mg% Kreatinin i.S.		0,5006 [*]		
$\mu\text{Mol Glyc. - Glyc. i.U.}$ pro mg Kreatinin i.U. und Kreatinin - Clearance		-0,5071 [*]		
$\mu\text{Mol Glyc. - Glyc.}$ pro 24 h und mg% Harnstoff i.S.			0,6737 [*]	
$\mu\text{Mol Glyc. - Glyc.}$ pro 24 h und Kreatinin - Clearance				0,9161 [*]
Tab. 3: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen Glyc. - Glyc. im Urin einerseits und Harnstoff, Kreatinin im Serum und Kreatinin - Clearance andererseits. $x = p < 0,05$ $xx = p < 0,01$				

Um eventuelle Beziehungen zu weiteren Stoffwechselgrößen zu überprüfen, wurden zwischen dem im Urin auftretenden Glycerid-Glycerin einerseits und der Serumharnsäure sowie dem anorganischen Phosphat im Serum, dem Serumgesamtweiß, der Serumglucose, der 24-h-Menge des Urins, dem Serumcholesterin und den Serumtriglyceriden andererseits die Korrelationskoeffizienten ermittelt.

Die statistisch auffälligen ($\alpha = 5\%$ -Niveau) bzw. gesicherten ($\alpha = 1\%$ -Niveau) Ergebnisse sind in den Tab. 4 u. 5 dargestellt.

Korrelation zwischen	Nieren- insuff.	Pankreas- Karzinom	Hyper- lipidämie	Intoxi- kationen
$\mu\text{Mol Glyc-Glyc. i. Urin}$ pro 24 h und g% Eiweiß i. Serum	α 0,5077			
$\mu\text{Mol Glyc-Glyc. i. Urin}$ pro 24 h und mg% Harnsäure i. Ser.			α 0,8959	
$\mu\text{Mol Glyc-Glyc. i. Urin}$ pro mg Kreatinin i. Urin und g% Eiweiß i. Serum				$\alpha\alpha$ -0,9942

Tab. 4: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen Glyc-Glyc. im Urin einerseits und der Serumharnsäure und dem Gesamtweiß im Serum andererseits. $\alpha = p < 0,05$ $\alpha\alpha = p < 0,01$

Korrelation zwischen	Normal- personen	Diabetes mellitus	Pankreas- Karzinom	Hyper- lipidämie
$\mu\text{Mol Glyc-Glyc. i. Urin}$ pro 24 h und 24 h - Urin - Menge	$\alpha\alpha$ 0,8593		$\alpha\alpha$ 0,9102	$\alpha\alpha$ 0,9878
$\mu\text{Mol Glyc-Glyc. i. Urin}$ pro mg Kreatinin i. Urin und 24 h - Urin - Menge		$\alpha\alpha$ 0,6052	α 0,7361	

Tab. 5: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen dem Glyc-Glyc. im Urin und der Menge des 24h - Urins. $\alpha = p < 0,05$ $\alpha\alpha = p < 0,01$

Korrelation zwischen	Normal- personen	Hyper- lipidämie
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. i. Urin pro 24 h}$ und $\gamma\text{ Chol. i. Urin pro 24 h}$	xx 0,8009	
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. i. Urin pro 24 h}$ und $\gamma\text{ Chol. i. Urin pro mg Kreatinin i. U.}$		x -0,9268
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. pro 100 ml Urin}$ und $\gamma\text{ Chol. pro 100 ml Urin}$		x -0,9502
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. i. U. pro 24 h}$ und $\gamma\text{ Chol. pro 100 ml Urin}$		x -0,9469

Tab. 6: Statistisch gesicherte Beziehungen
zwischen Glyc.-Glyc. i. Urin und
Cholesterin i. Urin.

x = $p < 0,05$

xx = $p < 0,01$

Korrelationen zwischen	Normal- personen	Leber- zirrhose
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. i. U. pro mg Krea-}$ tinin i. U. und $\gamma\text{ Phosphor i. U. pro mg Kreatinin i. U.}$	xx 0,8429	xx 0,5653
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. pro 100 ml Urin}$ und $\gamma\text{ Phosphor pro 100 ml Urin}$	xx 0,8274	
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. i. U.}$ pro mg Kreatinin i. U. und $\gamma\text{ Phosphor pro 24 h}$	xx 0,7621	
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. pro 100 ml Urin}$ und $\gamma\text{ Phosphor pro 24 h}$	xx 0,7962	
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. pro 24 h}$ und $\gamma\text{ Phosphor pro 24 h}$	xx 0,7745	
$\mu\text{Mol Glyc.}-\text{Glyc. pro 24 h}$ und $\gamma\text{ Phosphor i. U. pro}$ mg Kreatinin i. U.		x 0,4439

Tab. 7: Statistisch gesicherte Beziehungen
zwischen Glyc.-Glyc. i. Urin und
Lipid-Phosphor i. Urin.

x = $p < 0,05$

xx = $p < 0,01$

c) Zusammenfassung

Durch die oben angeführten Untersuchungen konnte demnach nachgewiesen werden, daß sowohl im Urin Gesunder als auch im Urin Kranker Glyceride ausgeschieden werden. Das erfaßte Glycerid-Glycerin bewegte sich dabei in einer Größenordnung von 0,7440 uMol/24h bei Normalpersonen bis 53,6070 uMol/24h im Mittel bei Herzinsuffizienzen. Alle übrigen einbezogenen Krankheitsgruppen lagen mit ihren Mittelwerten dazwischen.

Statistisch signifikant ($p < 0,01$) höher als bei Normalpersonen lagen die Mittelwerte des Glycerid-Glycerins im Urin der Gruppen "Herzinsuffizienz", "Pankreaskarzinom", und "Hyperlipidämie". Auf dem 5%-Niveau auffällig höher waren auch die Glycerid-Glycerinwerte im Urin der anderen Krankheitsgruppen, wie bereits in Tab. 2 dargestellt. Eine Beziehung zwischen dem Glycerid-Glycerin des Urins und dem Eiweißgehalt des Urins konnte nur in zwei Fällen auf dem 5%-Niveau nachgewiesen werden. Eine statistisch auffällige ($p < 0,05$) oder signifikante ($p < 0,01$) Abhängigkeit des Glycerid-Glycerins im Urin vom Serumkreatinin trat dreimal, vom Serumharnstoff zweimal und von der Kreatininclearance ebenfalls zweimal auf. (Tab. 3)

Statistisch auf dem 1%-Niveau gesicherte bzw. auf dem 5%-Niveau auffällige Korrelationen des Glycerid-Glycerins im Urin mit der Serumharnsäure traten zweimal und mit dem Gesamteiweiß im Serum dreimal auf. Statistisch relevante Beziehungen zur Serumglucose und zum anorganischen Phosphat im Serum ergaben sich nicht. (Tab. 4)

Zwischen dem Glycerid-Glycerin im Urin und den Serumtriglyceriden sowie dem Serumcholesterin ergaben sich ebenfalls keine statistisch gesicherten Beziehungen. Gegenüber der 24-h-Menge des Urins bestanden jedoch in sechs Fällen Abhängigkeiten wie Tab. 5 zeigt.

Schließlich sollte noch untersucht werden, ob zwischen dem Glycerid-Glycerin des Urins einerseits und dem Cholesterin und dem Lipidphosphor des Urins andererseits Abhängigkeiten bestehen. Statistisch relevante Korrelationen mit dem Cholesterin und dem Lipidphosphor des Urins waren nur bei den Normalpersonen zu verzeichnen. Bei "Hyperlipidämien" bestehen negative Korrelationen zwischen Uringlyceriden und Urincholesterinen.

2.) Cholesterin

a) Laborergebnisse

Die Ausscheidungsmengen des Cholesterins bei den verschiedenen Gruppen sind in Tab.8 zusammengestellt. Graphische Darstellung siehe Abb.2.

	n	<u>mg Cholesterin</u> 100 ml Urin	<u>mg Cholesterin</u> 24 h	<u>mg Cholesterin</u> mg Kreatinin i.U.
Normal- personen	10	1,44 ± 0,35	21,77 ± 9,96	13,79 ± 5,37
Nieren- insuff.	25	0,932 ± 0,928	^{xx} 10,07 ± 10,63	11,59 ± 11,22
Diabetes	23	1,19 ± 1,27	10,95 ± 19,34	13,40 ± 19,25
Leber- zirrhose	23	0,817 ± 0,618	^{xx} 7,57 ± 5,55	10,13 ± 10,48
Herz- insuff.	11	1,64 ± 2,35	12,53 ± 22,53	8,47 ± 12,00
Pankreas- karzinom	8	1,12 ± 1,10	^x 9,20 ± 9,58	11,11 ± 7,12
Hyperli- pidämie	5	0,738 ± 0,451	^{xx} 5,24 ± 2,06	^x 7,06 ± 4,16
Intoxi- kation	5	1,09 ± 0,992	27,16 ± 41,32	12,82 ± 9,05
Lungen- Tbc	2	0,020 ± 0,003	0,92 ± 0,91	1,19 ± 0,510

Tab. 8 : Ausscheidung von Cholesterin im Urin der verschiedenen Gruppen.

x = $p < 0,05$ im Vergleich zu Normalpersonen

xx = $p < 0,01$ im Vergleich zu Normalpersonen

b) Statistische Analysen

Die Prüfung auf statistisch gesicherte Unterschiede in der Ausscheidung des Cholesterins ergab folgende Ergebnisse: Die Gesamtmenge von Cholesterin im 24-Stunden-Urin war bei der Gruppe der Normalpersonen auf dem 5%-Niveau auffällig höher als bei der Gruppe "Pankreaskarzinom" und auf dem 1%-Niveau signifikant höher als bei den Gruppen "Leberzirrhose" und "Hyperlipidämie".

Die Konzentration des Cholesterins in 100ml Urin zeigte sich bei der Gruppe der Normalpersonen auf dem 1%-Niveau

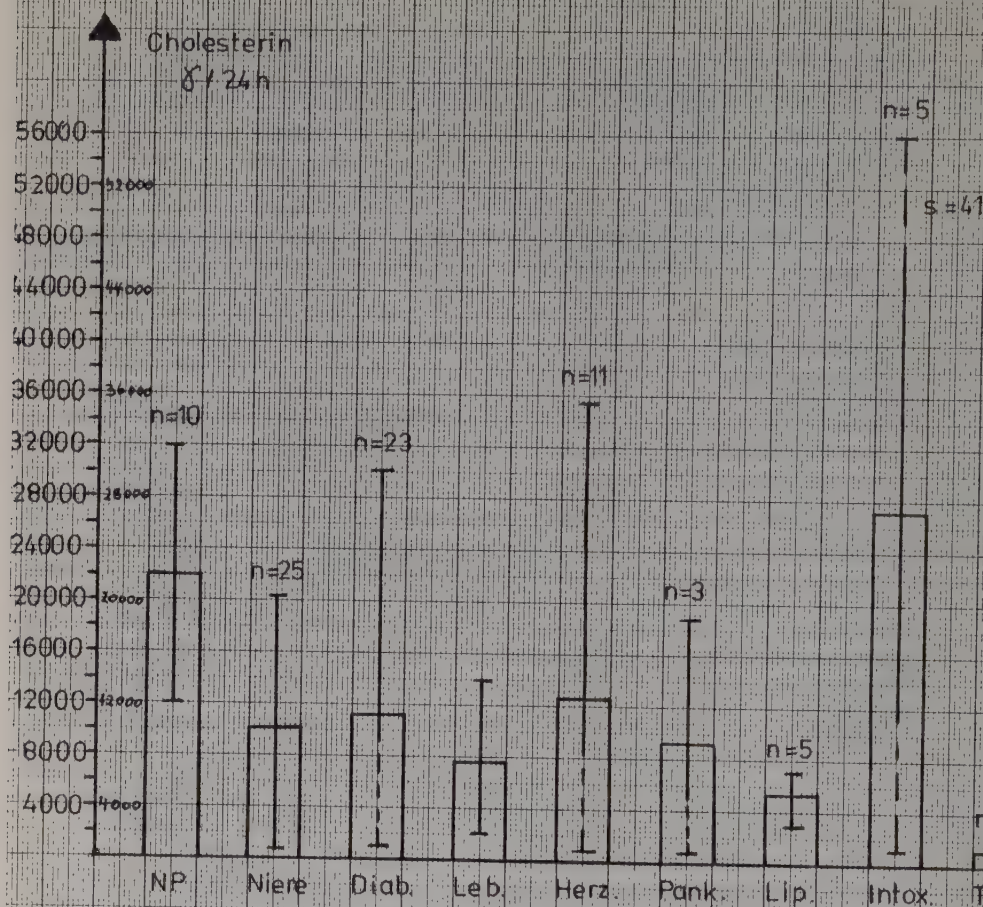


Abb. Nr. 2: Cholesterinausscheidung im 24-h-Urin in den einzelnen Gruppen. Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung.

Abkürzungen:

NP = Normalpersonen

Niere = Niereninsuffizienz

Diab. = Diabetes mellitus

Leb. = Leberzirrhose

Herz = Herzinsuffizienz

Pank. = maligne Pankreas-
erkrankung

Lip. = Hyperlipidämie

Intox. = Intoxikationen

Tbc. = Lungentuberkulose

signifikant höher als bei den Gruppen "Heberzirrrose" und "Hyperlipidämie".

Das auf das Urinkreatinin bezogene Cholesterin des Urins war bei der Gruppe der Normalpersonen auf dem 5%-Niveau auffällig höher als bei der Gruppe der Hyperlipidämie. Auf dem 5%-Niveau auffällig niedriger war es bei der Gruppe "Leberzirrrose" gegenüber der Gruppe "Intoxikationen". Die Gruppe der Lungentuberkulose wurde zur Signifikanzrechnung nicht herangezogen, da die Fallzahl zu niedrig war.

Mit Hilfe korrelationsstatistischer Analysen wurden die Zusammenhänge zwischen der Cholesterinausscheidung im Urin und anderen Harnbestandteilen sowie mit verschiedenen Substanzen des Blutserums untersucht. Dies geschah gesondert für die verschiedenen "Dimensionen" und gesondert für die Krankheitsgruppen bzw. die Normalpersonen.

Wie im Falle des Glycerid-Glycerins ergeben sich auch hier statistisch gesicherte ($p < 0,01$) Zusammenhänge zwischen Eiweißausscheidung und Cholesterinausscheidung im 24-h-Harn nur in den Gruppen "Pankreaskarzinom" und "Intoxikationen". Cholesterin- und Glycerid-Glycerinausscheidung im Harn der Gruppe der "Hyperlipidämie" sind negativ korreliert, wie dies bereits im Kapitel über die Glyceride im Harn berichtet wurde. Diese Tatsache wird auch hier bestätigt. Bei Normalpersonen sind hingegen Glycerid- und Cholesterinausscheidung signifikant positiv korreliert ($p < 0,01$). Besonders erwähnenswert sind die zahlreichen positiv signifikanten Korrelationen zwischen Cholesterin- und Lipidphosphorausscheidung im Harn bei Normalpersonen und den verschiedenen Patientenkollektiven. (s. Tab. 11)

Da die Menge des im Urin auftretenden Eiweißes wesentlich abhängig ist von dem Schaden der glomerulären Membran, werden diese Korrelationen sowohl die Frage eines obligaten Membranschadens zum Auftreten von Cholesterin im Urin auf als auch die Frage des obligaten Übertritts von Cholesterin als Lipoproteid.

Da zudem noch geklärt werden sollte, ob eine Nephropathie im weitesten Sinne Einfluß auf das Auftreten von Cholesterin im Urin habe, wurden das Serumkreatinin, der Serumharnstoff und die Kreatininclearance als Indikatoren einer

zwischen	insuff.	diabetes mellitus	nevele zirrhose	herz= insuff.	frankes karzinom	infixi= kationen
Cholesterin i.U. pro mg Kreatinin im Urin und Lipid-Ph.i.Urin pro mg Kreatinin im Urin	0,8546 ^{xx}	0,8207 ^{xx}	0,4429 ^x	0,9602 ^{xx}		
Cholesterin/100ml Ur. und Lipid-Ph.i.Urin pro mg Kreatinin im Urin	0,7403 ^{xx}	0,6345 ^{xx}		0,8714 ^{xx}	0,7976 ^x	
Cholesterin pro 24 h und Lipid-Ph.i.U. pro mg Kreatinin im Urin	0,6133 ^{xx}	0,8429 ^{xx}		0,9498 ^{xx}		0,9101 ^x
Cholesterin i.U. pro mg Kreatinin im Urin und Lipid-Ph./100ml Urin	0,5381 ^{xx}	0,7696 ^{xx}		0,9714 ^{xx}		
Cholesterin/100ml Ur. und Lipid-Ph./100ml Urin	0,9147 ^{xx}	0,7269 ^{xx}		0,9374 ^{xx}	0,9276 ^{xx}	
Cholesterin i.U./24h und Lipid-Ph./100ml Urin	0,5293 ^{xx}	0,7738 ^{xx}		0,9896 ^{xx}		
Cholesterin i.U. pro mg Kreatinin im Urin und Lipid-Ph.i.U./24 h	0,7225 ^{xx}	0,8676 ^{xx}		0,9635 ^{xx}		
Cholesterin/100ml Ur. und Lipid-Ph. i.U./24 h	0,8348 ^{xx}	0,6853 ^{xx}		0,9074 ^{xx}		
Cholesterin i.U./24h und Lipid-Ph. i.U./24 h	0,8695 ^{xx}	0,8996 ^{xx}	0,5229 ^x	0,9779 ^{xx}	0,9338 ^{xx}	0,9880 ^{xx}

Tab. 11 : Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen dem Cholesterin des Urins und dem Lipid-phosphor des Urins. x = $p < 0,05$; xx = $p < 0,01$

Nierenfunktionsstörung mit den verschiedenen "Dimensionen" des Cholesterins im Urin korreliert. Auch dies geschah wieder getrennt für die einzelnen Krankheitsgruppen und die Normalpersonen.

Die statistisch auffälligen ($x = p < 0,05$) und gesicherten ($x = p < 0,01$) Ergebnisse sind in Tab.9 aufgeführt.

Korrelation zwischen	Normal- personen	Diabetes mellitus	Herz- insuffizienz	Intoxi- kationen	Leber- zirrhose
$\bar{x}$ Cholesterin i.U. pro 24 h und mg% Harnstoff i. Serum	0,6662 [*]				
$\bar{x}$ % Cholesterin i. Urin und Kreatinin - Clearance		0,5932 ^{**}			
$\bar{x}$ Cholesterin i.U. pro 24 h und Kreatinin - Clearance		0,5082 [*]		0,9823 ^{**}	0,5888 ^{**}
$\bar{x}$ % Cholesterin i. Urin und mg% Kreatinin i. Serum			0,7736 ^{**}		
$\bar{x}$ Cholesterin i.U. pro 24 h und mg% Kreatinin i. Serum			0,8036 ^{**}		
$\bar{x}$ Cholesterin i.U. pro mg Kreatinin i.U. und mg% Kreatinin i. Serum			0,8284 ^{**}		

Tab. 9.: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen Cholesterinaus-
scheidung im Urin einerseits und Kreatinin-Clearance,
Harnstoff und Kreatinin im Serum andererseits.

* $x = p < 0,05$

** $x = p < 0,01$

Um eventuelle Beziehungen zu weiteren Stoffwechselgrößen zu überprüfen, wurden zwischen dem im Urin auftretenden Cholesterin einerseits und der Serumharnsäure, dem anorganischen Phosphat im Serum, dem Serumcholesterin und den Serumtriglyceriden andererseits die Korrelationskoeffizienten ermittelt.

Die statistisch auffälligen ($x = p < 0,05$) bzw. gesicherten ($x = p < 0,01$) Ergebnisse sind in Tab. 10 dargestellt.

Korrelation zwischen	Normal - personen	Leber - zirrhose	Pankreas - karzinom	Hyper - lipidämie	Intoxi - kationen
$\bar{x}$ Chol. pro 100 ml Urin und mg% TG i. Serum	-0,6412 *				
$\bar{x}$ Chol. i. U. pro 24 h und 24-h-Menge Urin	0,8454 * x x				
$\bar{x}$ Chol. i. U. pro 24 h und mg% TG i. Serum		0,4845 *	0,7738 *		
$\bar{x}$ Chol. pro 100 ml Urin und mg% Chol. i. Serum		0,4888 *			0,8964 *
$\bar{x}$ Chol. pro 100 ml Urin und 24-h-Menge Urin		-0,5034 *			-0,9457 *
$\bar{x}$ Chol. i. U. pro mg Kreatinin i. U. und 24-h-Menge Urin				-0,8801 *	
$\bar{x}$ Chol. i. U. pro mg Kreatinin i. U. und mg% Chol. i. Serum					0,9142 *

Tab. Nr. 10: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen dem

Cholesterin des Urins und den Triglyceriden im Serum,
dem Serumcholesterin und der 24-h-Menge des Urins.

$x = p < 0,05$

$x x = p < 0,01$

c) Zusammenfassung

Durch die oben angeführten Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß sowohl im Urin Gesunder als auch im Urin Kranker Cholesterin ausgeschieden wird. Die erfaßten Cholesterinkonzentrationen bewegten sich dabei in einer Größenordnung von $921,55 \text{ } \mu\text{g}/24 \text{ h}$ im Mittel bei "Lungentuberkulose" bis $27158,24 \text{ } \mu\text{g}/24 \text{ h}$ im Mittel bei der Intoxikationsgruppe. Alle übrigen einbezogenen Krankheitsgruppen lagen mit ihren Mittelwerten dazwischen. Ebenso die Gruppe der Normalpersonen.

Statistisch signifikant ($p < 0,01$) bzw. auffällig ($p < 0,05$) höher lagen die Mittelwerte des Cholesterins im Urin bei der Gruppe der Normalpersonen gegenüber den Mittelwerten verschiedener Gruppen, wie in Tab. 8 aufgeführt.

Zusätzlich zu diesen Ergebnissen ließ sich nur noch eine auf dem 5%-Niveau auffällige geringere Menge an Cholesterin im 24-Stunden-Urin bei der Gruppe der Leberzirrhose gegenüber der Gruppe der Intoxikationen nachweisen.

Eine Beziehung des Cholesterins im Urin zum Eiweiß im Urin konnte viermal auf dem 1%-Niveau gesichert nachgewiesen werden.

Eine statistisch auffällige ($p < 0,05$) bzw. gesicherte ($p < 0,01$) Abhängigkeit des Cholesterins im Urin vom Serumkreatinin, Serumharnstoff und der Kreatininclearance trat neunmal auf. (Tab. 9)

An statistisch relevanten Korrelationen zwischen dem Cholesteringehalt im Urin und der Harnsäure, dem anorganischen Phosphat, dem Gesamteiweiß und der Glucose im Serum ergab sich nur eine einzige auf dem 5%-Niveau auffällige.

Zwischen dem Cholesteringehalt des Urins und den Serumtriglyceriden, dem Serumcholesterin und der 24-h-Menge des Urins bestanden insgesamt 10 statistisch auffällige ($p < 0,05$) bzw. signifikante ($p < 0,01$) Abhängigkeiten. (s. Tab. 10)

Schließlich sollte noch untersucht werden, ob zwischen dem Cholesteringehalt des Urins einerseits und dem Glycerid-Glycerin- und dem Lipidphosphorgehalt des Urins andererseits Abhängigkeiten bestehen. Statistisch relevante negative Korrelationen bestehen mit dem Glycerid-Glycerin des Urins und positive mit dem Lipidphosphor des Urins. (Tab. 11)

3.) Lipidphosphor

a) Laborergebnisse

Die Ausscheidungsmengen des Lipidphosphors bei den verschiedenen Gruppen sind in Tab. 12 zusammengestellt. Graphische Darstellung siehe Abb. 3.

	n	$\frac{\gamma \text{Lipidphosphor}}{100 \text{ml Urin}}$	$\frac{\gamma \text{Lipidphosphor}}{24 \text{ h}}$	$\frac{\gamma \text{Lipidphosphor}}{\text{mg Kreatinin i.U.}}$
Normal- personen	10	15,58 $\pm 11,41$	251,36 $\pm 220,84$	0,1610 $\pm 0,1651$
Nieren- insuff.	25	27,43 $\pm 33,83$	253,50 $\pm 297,43$	0,3226 $\pm 0,3180$
Diabetes mellitus	23	35,25 $\pm 47,01$	388,98 $\pm 711,34$	0,4810 $\pm 0,7228$
Leber- zirrh.	23	16,12 $\pm 13,75$	193,00 $\pm 228,79$	0,2457 $\pm 0,2334$
Herz- insuff.	11	54,59 $\pm 100,54$	469,78 $\pm 1006,49$	0,3010 $\pm 0,5521$
Pankreas- karzin.	8	30,22 $\pm 37,90$	234,51 $\pm 238,11$	0,2775 $\pm 0,1881$
Hyperlip- ämie	5	16,52 $\pm 11,66$	132,40 $\pm 75,78$	0,1540 $\pm 0,0940$
Intoxi- kation	5	19,60 $\pm 12,61$	663,32 $\pm 1059,46$	0,2840 $\pm 0,1405$
Lungen- Tbc	2	3,90 $\pm 3,25$	104,40 $\pm 7,21$	0,2000 $\pm 0,1273$

Tab. 12 : Ausscheidung von Lipidphosphor im Urin der verschiedenen Gruppen. Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen.

b) Statistische Analysen

Die Prüfung auf statistisch gesicherte Unterschiede in der Ausscheidung des Lipidphosphors ergab folgende Ergebnisse: Es zeigten sich keine statistisch relevanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der verschiedenen Gruppen. Die Irrtumswahrscheinlichkeit war in jedem Falle größer als 5%.

c) Zusammenfassung

Durch die oben angeführten Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß sowohl im Urin Gesunder als auch im Urin Kranker Cholesterin ausgeschieden wird. Die erfaßten Cholesterinkonzentrationen bewegten sich dabei in einer Größenordnung von $921,55 \mu\text{g}/24 \text{ h}$ im Mittel bei "Lungentuberkulose" bis $27158,24 \mu\text{g}/24 \text{ h}$ im Mittel bei der Intoxikationsgruppe. Alle übrigen einbezogenen Krankheitsgruppen lagen mit ihren Mittelwerten dazwischen. Ebenso die Gruppe der Normalpersonen.

Statistisch signifikant ($p < 0,01$) bzw. auffällig ($p < 0,05$) höher lagen die Mittelwerte des Cholesterins im Urin bei der Gruppe der Normalpersonen gegenüber den Mittelwerten verschiedener Gruppen, wie in Tab. 8 aufgeführt.

Zusätzlich zu diesen Ergebnissen ließ sich nur noch eine auf dem 5%-Niveau auffällige geringere Menge an Cholesterin im 24-Stunden-Urin bei der Gruppe der Leberzirrhose gegenüber der Gruppe der Intoxikationen nachweisen.

Eine Beziehung des Cholesterins im Urin zum Eiweiß im Urin konnte viermal auf dem 1%-Niveau gesichert nachgewiesen werden.

Eine statistisch auffällige ($p < 0,05$) bzw. gesicherte ($p < 0,01$) Abhängigkeit des Cholesterins im Urin vom Serumkreatinin, Serumharnstoff und der Kreatininclearance trat neunmal auf. (Tab. 9)

An statistisch relevanten Korrelationen zwischen dem Cholesteringehalt im Urin und der Harnsäure, dem anorganischen Phosphat, dem Gesamteiweiß und der Glucose im Serum ergab sich nur eine einzige auf dem 5%-Niveau auffällige.

Zwischen dem Cholesteringehalt des Urins und den Serumtriglyceriden, dem Serumcholesterin und der 24-h-Menge des Urins bestanden insgesamt 10 statistisch auffällige ($p < 0,05$) bzw. signifikante ($p < 0,01$) Abhängigkeiten. (s. Tab. 10)

Schließlich sollte noch untersucht werden, ob zwischen dem Cholesteringehalt des Urins einerseits und dem Glycerid-Glycerin- und dem Lipidphosphorgehalt des Urins andererseits Abhängigkeiten bestehen. Statistisch relevante negative Korrelationen bestehen mit dem Glycerid-Glycerin des Urins und positive mit dem Lipidphosphor des Urins. (Tab. 11)

3.) Lipidphosphor

a) Laborergebnisse

Die Ausscheidungsmengen des Lipidphosphors bei den verschiedenen Gruppen sind in Tab. 12 zusammengestellt. Graphische Darstellung siehe Abb. 3.

	n	γ Lipidphosphor 100ml Urin	γ Lipidphosphor 24 h	γ Lipidphosphor mg Kreatinin i.U.
Normal- personen	10	15,58 $\pm$ 11,41	251,36 $\pm$ 220,84	0,1610 $\pm$ 0,1651
Nieren- insuff.	25	27,43 $\pm$ 33,83	253,50 $\pm$ 297,43	0,3226 $\pm$ 0,3180
Diabetes mellitus	23	35,25 $\pm$ 47,01	388,98 $\pm$ 711,34	0,4810 $\pm$ 0,7228
Leber- zirrh.	23	16,12 $\pm$ 13,75	193,00 $\pm$ 228,79	0,2457 $\pm$ 0,2334
Herz- insuff.	11	54,59 $\pm$ 100,54	469,78 $\pm$ 1006,49	0,3010 $\pm$ 0,5521
Pankreas- karzin.	8	30,22 $\pm$ 37,90	234,51 $\pm$ 238,11	0,2775 $\pm$ 0,1881
Hyperlip- ämie	5	16,52 $\pm$ 11,66	132,40 $\pm$ 75,78	0,1540 $\pm$ 0,0940
Intoxi- kation	5	19,60 $\pm$ 12,61	663,32 $\pm$ 1059,46	0,2840 $\pm$ 0,1405
Lungen- Tbc	2	3,90 $\pm$ 3,25	104,40 $\pm$ 7,21	0,2000 $\pm$ 0,1273

Tab. 12 : Ausscheidung von Lipidphosphor im Urin der verschiedenen Gruppen. Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen.

b) Statistische Analysen

Die Prüfung auf statistisch gesicherte Unterschiede in der Ausscheidung des Lipidphosphors ergab folgende Ergebnisse: Es zeigten sich keine statistisch relevanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der verschiedenen Gruppen. Die Irrtumswahrscheinlichkeit war in jedem Falle größer als 5%.

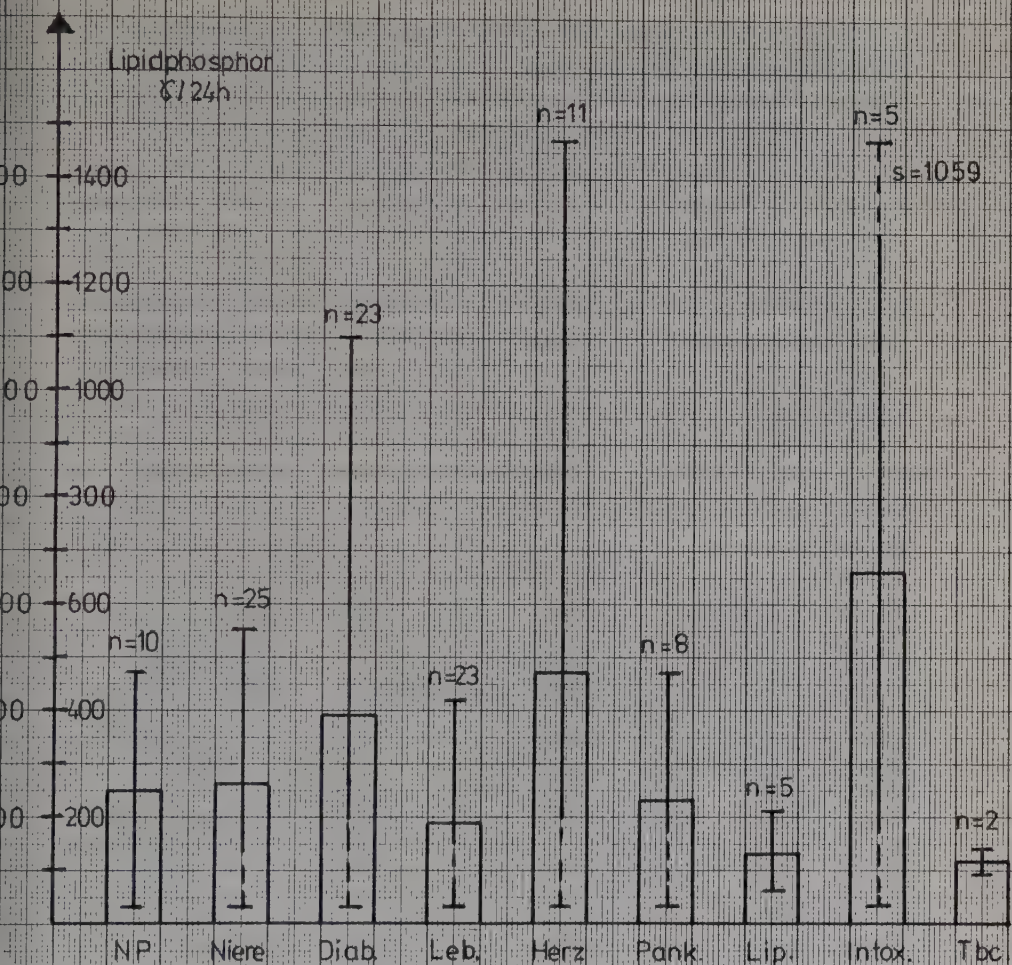


Abb. Nr. 3: Lipidphosphorauscheidung im 24-h-Urin in den einzelnen Gruppen. Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen.

Abkürzungen:

NP = Normalpersonen

Niere = Niereninsuffizienz

Diab. = Diabetes mellitus

Leb. = Leberzirrhose

Herz = Herzinsuffizienz

Pank. = maligne Pankreaserkrankungen

Lip. = Hyperlipidämie

Intox. = Intoxikationen

Tbc. = Lungentuberkulose

Mit Hilfe korrelationsstatistischer Analysen wurden die Zusammenhänge zwischen Lipidphosphorausscheidung im Urin mit anderen Harnbestandteilen sowie mit verschiedenen Substanzen des Blutserums untersucht. Dies geschah gesondert für die verschiedenen "Dimensionen" und gesondert für jede Krankheitsgruppe bzw. die Normalpersonen.

Gesicherte Beziehungen zwischen den Mengen an Lipidphosphor und Glycerid-Glycerin im Urin lassen sich nur für die Normalpersonen und für die Gruppe "Leberzirrhose" nachweisen. Auf die engen Beziehungen zwischen Cholesterin- und Lipidphosphorausscheidung wurde bereits auf Seite 31 eingegangen. Die Befunde (s. Tab. 11) werden erneut bestätigt. Tab. 13 zeigt die Ergebnisse statistisch signifikanter (xx) und auffälliger (x) Korrelationen zwischen Lipidphosphor und Eiweiß im Urin. "Pankreaskarzinome" und "Intoxikationen" weisen wiederum Zusammenhänge mit der Proteinurie auf (vergl. Glycerid-Glycerin und Cholesterin im Urin). Weitere Erkrankungen treten im Falle des Lipidphosphors hinzu.

Korrelation zwischen	Nieren - insuff.	Leber - zirrhose	Pankreas- karzinom	Intoxi - kationen
δ Lipid - P pro 100 ml Urin und mg EW pro 100 ml Urin	0,5185 ^x	0,5997 ^{xx}	0,9532 ^{xx}	
δ Lipid - P pro 100 ml Urin und mg EW pro 24-h-Urin	0,4493 ^x	0,4595 ^x		
δ Lipid - P pro 24-h-Urin und mg EW pro 24-h-Urin		0,5888 ^{xx}	0,8928 ^{xx}	0,9897 ^{xx}
δ Lipid - P i.U. pro mg Krea- tinin i.U. und mg EW pro 100 ml Urin			0,7547 ^{xx}	0,8931 ^x
δ Lipid - P pro 24-h-Urin und mg EW pro 100 ml Urin				0,9853 ^{xx}

Tab. Nr. 13: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen Lipidphosphorausscheidung und Eiweißausscheidung im Urin.
 $x = p < 0,05$ $xx = p < 0,01$

Da die Menge des im Urin auftretenden Eiweißes abhängig ist von dem Schaden der glomerulären Membran,werfen die Korrelationen die Frage eines obligaten Membranschadens für das Auftreten von Lipidphosphor im Urin als auch die Frage des obligaten Übertritts von Lipidphosphor als Lipoproteid auf.

Da zudem noch geklärt werden sollte,ob eine Nephropathie im weitesten Sinne Einfluß auf das Auftreten von Lipid-Phosphor im Urin habe,wurden das Serumkreatinin,der Serumharnstoff und die Kreatininclearance als Indikatoren einer Nierenfunktionsstörung mit den verschiedenen "Dimensionen" des Lipidphosphors im Urin korreliert.Auch dies geschah wieder getrennt für die einzelnen Krankheitsgruppen und die Normalpersonen.

Die statistisch auffälligen (x) und gesicherten (xx) Ergebnisse sind in Tab. 14 aufgeführt.

Korrelation zwischen	Herz- insuff.	Intoxi- kationen
δ Lipid-P pro 100 ml Urin und mg% Kreatinin i. Serum	0,8394 **	
δ Lipid-P pro 24-h-Urin und mg% Kreatinin i. Serum	0,8055 **	
δ Lipid-P i.U. pro mg Kreatinin i.U. und mg% Kreatinin i. Serum	0,8407 **	
δ Lipid-P pro 24-h-Urin und Kreatinin - Clearance		0,9959 **
δ Lipid-P i.U. pro mg Kreatinin i.U. und Kreatinin - Clearance		0,9132 **

Tab.Nr.14: Statistisch gesicherte Beziehungen
zwischen Lipid-Phosphor-Ausschei-
dung i.U. und Kreatinin-Clearance
und Serum-Kreatinin.

x = p < 0,05

xx = p < 0,01

Um eventuelle Beziehungen zu weiteren Stoffwechselgrößen zu überprüfen, wurden zwischen dem im Urin auftretenden Lipidphosphor einerseits und der Harnsäure, dem anorganischen Phosphat, dem Gesamteiweiß, der Glucose, dem Cholesterin und den Triglyceriden im Serum sowie der 24-h-Menge des Urins andererseits die Korrelationskoeffizienten ermittelt.

Die statistisch auffälligen ($x = p < 0,05$) bzw. gesicherten ($xx = p < 0,01$) Ergebnisse sind in Tab. 15 dargestellt. Auffallend sind hier negative Korrelationen zwischen Serumeiweißkonzentration und Lipidphosphorausscheidung im Harn bei den Gruppe "Diabetes mellitus" und "Leberzirrhose".

Korrelation zwischen	Diabetes mellitus	Leber - zirrrose	Hyper - lipidämie
δ Lipid-P pro 24-h-Urin und g% EW im Serum	x -0,4342	xx -0,5484	
δ Lipid-P i.U. pro mg Kreatinin i.U. und g% EW im Serum		x -0,5231	
δ Lipid-P pro 100 ml Urin und g% EW im Serum		xx -0,6938	
δ Lipid-P pro 100 ml Urin und mg % Glucose im Serum		xx 0,6919	
δ Lipid-P i.U. pro mg Kreatinin i.U. und mg% anorg. Phosphat im Serum			x 0,9297
Tab. Nr 15: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen dem Lipidphosphor des Urins einerseits und dem Eiweiß im Serum, der Serumglucose und dem anorganischen Phosphat im Serum andererseits. $x = p < 0,05$ $xx = p < 0,01$			

c) Zusammenfassung

Durch unsere Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß sowohl im Urin Gesunder als auch im Urin Kranker Lipidphosphor ausgeschieden wird. Der erfaßte Lipidphosphor bewegte sich dabei in einer Größenordnung zwischen 104,4 μ /24 h bei der Gruppe "Lungentuberkulose" und 663,32 μ /24h bei der Gruppe "Intoxikationen". Die Mittelwerte aller übrigen einbezogenen Krankheitsgruppen und der Normalpersonen lagen dazwischen.

Statistisch signifikant ($p < 0,01$) unterschieden sich die Mittelwerte des Lipidphosphors im Urin bei keiner Gruppe gegenüber denen einer anderen. Auch das 5%-Niveau der Irrtumswahrscheinlichkeit wurde nicht erreicht.

Eine Beziehung des Lipidphosphors zum Eiweiß im Urin konnte, wie in Tab. 13 aufgeführt, bei den Gruppen "Nephropathie", "Leberzirrhose", "Pankreaskarzinom" und "Intoxikationen" nachgewiesen werden.

Eine statistisch auffällige ($p < 0,05$) bzw. gesicherte ($p < 0,01$) Abhängigkeit des Lipidphosphors im Urin vom Serumkreatinin, Serumharnstoff und der Kreatininclearance trat nur bei den Gruppen "Herzinsuffizienz" und "Intoxikationen" auf.

Negative statistisch signifikante Korrelationen des Lipidphosphors im Urin mit der Serumharnsäure, dem anorganischen Phosphat im Serum, dem Serumgesamteiweiß und der Serumglucose ergaben sich insgesamt sechsmal, z.B. bei "Diabetes mellitus und besonders bei "Leberzirrhose". Schließlich sollte noch untersucht werden, ob zwischen dem Lipidphosphor des Urins einerseits und dem Glycerid-Glycerin und dem Cholesterin des Urins andererseits Abhängigkeiten bestehen.

Statistisch relevante Korrelationen mit dem Glycerid-Glycerin des Urins fanden sich achtmal und mit dem Cholesterin des Urins vierunddreißigmal.

E DISKUSSION

I. Besprechung der Ergebnisse

1.) Ergebnisse aus Abschnitt D I

Um zu reproduzierbaren Ergebnissen zu kommen, verlangte die Entwicklung der Methodik dieser Arbeit besonderes Augenmerk und einen nicht unerheblichen zeitlichen Aufwand. Dabei bestand die Hauptschwierigkeit in der Aufbereitung der Urine und der Gewinnung eines gereinigten, von allen Fremdbeimischungen befreiten Lipidextraktes aus ihnen.

Es fand sich eine erhebliche Behaftung der hier verwendeten Dialysierschlauchware mit Stoffen, die sowohl die Lipidphosphor- als auch die Glycerid-Glycerinbestimmung zu beeinflussen imstande waren. Es resultierte daraus die Notwendigkeit einer sehr gründlichen Reinigung der Dialysierschläuche bevor sie in den beschriebenen, als günstig herausgefundenen Dimensionen zum Einsatz kamen.

Ein weiteres Problem stellte die Substanz Carbowax selbst dar, da sie nachgewiesenermaßen die Bestimmungen des Cholesterins wie auch die des Glycerid-Glycerins und des Lipidphosphors zu verfälschen in der Lage war, wenn auch nur Spuren von ihr in den Reaktionsansatz gelangten. Das Einfüllen der Substanz in die Dialysierschläuche hatte also unbedingt sorgfältig zu erfolgen. Ebenso sorgfältig mußte der Verschuß der Schläuche vorgenommen werden, um einen Austritt von Carbowax mit Sicherheit zu verhindern.

Da der Vorgang der Dialyse je nach Ausgangsmenge des 24-Stunden-Sammelurins unter Umständen viele Stunden in Anspruch nahm, bestand die Gefahr der bakteriellen Besiedelung. Es wären dabei entweder Substanzen eingebracht worden, die ursprünglich nicht enthalten waren, oder aber Substanzen, die bestimmt werden sollten, abgebaut worden. Der bakterielle Befall mußte also verhindert werden. Wie sich bei entsprechenden Kontrollen zeigte, gelang dies durch eine generelle Einstellung der Urine auf pH₄ und die Versetzung mit 10%-iger Thymollösung.

Ein weiteres schwerwiegendes Problem bestand in der Beimischung von Farbstoffen in den nach der Gefriertrock-

nung gewonnenen Extrakten. Diese Färbung hätte, wo sie intensiv genug war, die photometrische Bestimmung erschwert, wenn nicht unmöglich gemacht. Ferner zeigte sich, daß in den ungereinigten Extrakten Substanzen enthalten waren, die in die Bestimmungen eingegangen wären, ohne daß sie Lipidsubstanzen dargestellt hätten.

Es mußte also eine Reinigung durchgeführt werden, die sowohl die wasserlöslichen Farbstoffe als auch die verfälschenden Nicht-Lipid-Substanzen entfernte, ohne daß das Glycerid-Glycerin, das Cholesterin und die Phosphorlipide beeinflusst wurden. Dies gelang mit meist mehrfachem Ausschütteln der Extrakte mit wässriger CaCl_2 -Lösung wie beschrieben.

2.) Ergebnisse aus Abschnitt D II

Die elektrophoretische Untersuchung der Urinlipide war ein weiteres Anliegen dieser Arbeit. Bei der Aufteilung der Serumlipoproteine längst Routine, sind solche Untersuchungen auch mit erfolgreichem Ergebnis in der Literatur (²⁴) für die Urinlipide beschrieben. Allerdings wurde dort eine andere Methode verwendet als in dieser Arbeit. Hier wurde untersucht, ob im eingeeengten Urin Lipid-Substanzen auftraten, die, im Agarose-Gel einem elektrischen Feld ausgesetzt, wanderten. Unter den vorliegenden Versuchsbedingungen konnten solche Substanzen nicht nachgewiesen werden. Dies mag daran liegen, daß bei der verwendeten Methodik nicht genügend Urin eingesetzt werden konnte, so daß etwa vorhandene Lipoproteine unter der Nachweisgrenze der angewandten Technik blieben, oder aber daran, daß durch die vorausgegangenen Maßnahmen die Eiweißbindung der Lipidsubstanzen zerstört wurde. Eine diesbezügliche Klärung konnte im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen allerdings nicht durchgeführt werden.

3.) Ergebnisse aus Abschnitt D III

Bei den quantitativen Angaben der Lipid-Substanzen im Urin wurden die gefundenen Werte in μMol Glycerid-Glycerin, gamma Cholesterin und gamma Lipidphosphor wiedergegeben. Eine Umrechnung z.B. auf Triglyceride oder Phospholipide erfolgte nicht, weil die an den Lipiden im Urin beteiligten Fettsäuren weder ihrer Art nach, noch ihrem relativen

Anteil nach hinreichend bekannt sind.

Um hier einen Einblick zu erlangen, wurden die Fettsäuren der Urin triglyceride, der Urin cholesterinester und der Urin phospholipide von fünf Urinen gaschromatographisch untersucht. Es fanden sich dabei bei allen drei Urinfettfraktionen die Beteiligung von Fettsäuren der Kohlenstoffkettenlänge C_{11} bis C_{20} , darunter einfach bis mehrfach ungesättigte. Am häufigsten vertreten waren Palmitinsäure, Ölsäure und Linolsäure.

Da insgesamt nur fünf Urine herangezogen wurden, reichten diese Ergebnisse nicht aus, um statistisch hinreichend gesicherte durchschnittliche Werte für die Beteiligung der einzelnen Fettsäuren an den Urinlipiden zu erhalten und so eine Umrechnung zu erlauben. Generell jedoch ist aus den vorliegenden Untersuchungen zu folgern, daß am Fettsäuremuster der Lipide des Urins die gleichen Fettsäuren, wenn auch in etwas abweichender Relation beteiligt sind wie am Aufbau der Fettsäuremuster der Serumlipide.

4.) Ergebnisse aus Abschnitt D IV

Sowohl die Ergebnisse der Glycerid-Glycerin- als auch der Cholesterin- und Lipidphosphorbestimmung zeigen das Auftreten dieser drei Substanzen im Urin in jedem untersuchten Fall, auch bei der Gruppe der gesunden Vergleichspersonen. Die auftretenden Unterschiede in der Menge der Substanzen zwischen den einzelnen Gruppen sind bemerkenswert, wenn sie auch nur zum Teil statistisch gesichert werden konnten.

Beim Glycerid-Glycerin zeigt in allen drei Bezugssystemen die Gruppe der Normalpersonen die niedrigste Ausscheidung. Alle übrigen Gruppen weisen deutlich höhere Ausscheidungen auf, welche sich zum Teil statistisch signifikant ($p < 0,01$), teilweise statistisch auffällig ($p < 0,05$) von den Werten der Normalpersonen unterscheiden.

Es bestehen also bezüglich der Glycerid-Glycerinausscheidung im Urin gesicherte Unterschiede zwischen Gesunden und allen anderen hier einbezogenen Krankheitsbildern, wobei die Normalpersonen signifikant weniger Substanz ausscheiden. Bezüglich der Glycerid-Glycerinausscheidung im Urin unterscheiden sich die Krankheitsgruppen unter-

einander nicht. Auf Grund der vorliegenden Resultate ist also zu folgern, daß sich Gesunde bezüglich der Menge der renalen Glyceridglycerinausscheidung signifikant von Kranken unterscheiden; zwischen den verschiedenen Erkrankungen bestehen demgegenüber keine signifikanten Unterschiede der Glyceridglycerinausscheidung. (Vergleiche dazu Tab. 16)

	n	μ mol Glyc. Glyc. pro 24 h	mg Cholesterin pro 24 h	γ Lipid-P pro 24 h
Normal - personen	10	0,74 $\pm$ 0,46	21,77 $\pm$ 9,96	251,4 $\pm$ 220,3
Nieren - insuffizienz	25	^x 2,76 $\pm$ 2,96	^{xx} 10,07 $\pm$ 10,63	253,5 $\pm$ 297,4
Diab. mellitus	23	^x 27,00 $\pm$ 11,44	10,95 $\pm$ 19,34	333,9 $\pm$ 711,3
Leber - zirrhose	23	^x 3,35 $\pm$ 3,13	^{xx} 7,57 $\pm$ 5,55	193,0 $\pm$ 228,8
Herz - insuffizienz	11	^{xx} 53,60 $\pm$ 161,42	12,53 $\pm$ 22,25	469,3 $\pm$ 1000,5
Pankreas - karzinom	3	^{xx} 3,33 $\pm$ 3,22	^x 9,20 $\pm$ 9,53	234,5 $\pm$ 233,1
Hyper - lipidämie	5	^{xx} 2,29 $\pm$ 2,73	^{xx} 5,24 $\pm$ 2,06	132,4 $\pm$ 75,8
Intoxi - kationen	5	4,25 $\pm$ 4,47	27,16 $\pm$ 41,32	—

Tab. 16: Ausscheidung der Urinlipide bei den verschiedenen Gruppen.

Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung.

^x = p 0,05 im Vergleich zu Normalpersonen

^{xx} = p 0,01 " " "

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Cholesteringehalt des Urins. Hier unterscheidet sich die Gruppe der Gesunden durch eine deutlich höhere Ausscheidung von der Gruppe "Hyperlipidämie", "Leberzirrhose", "Niereninsuffizienz" und "Pankreaskarzinom". Zu den Gruppen "Diabetes mellitus", "Herzinsuffizienz" und "Intoxikationen" ergeben sich hier keine statistisch gesicherten Unterschiede.

Der einzige statistisch gesicherte Unterschied zwischen zwei Krankheitsgruppen tritt bei der Cholesterinausscheidung auf. Auf dem 5%-Niveau zeigt die Gruppe der Leberzirrhose eine geringere Ausscheidung als die Gruppe der Intoxikationen.

So kann gesagt werden, daß die Gruppe der Gesunden sich durch höhere Ausscheidung von Cholesterin im Urin von einigen Krankheitsgruppen unterscheidet, sich aber die Krankheitsgruppen untereinander, abgesehen von einer nicht sehr gewichtigen Ausnahme, nicht unterscheiden.

Beim Lipidphosphor im Urin liegen die Verhältnisse gänzlich anders. Es konnte nicht ein einziger statistisch gesicherter Unterschied zwischen den verschiedenen Mittelwerten aufgewiesen werden. Bezüglich des Lipidphosphors im Urin kann also kein Unterschied zwischen Gesunden und Kranken oder zwischen verschiedenen Krankheitsgruppen nachgewiesen werden.

Bei allen Mittelwerten in den verschiedenen Gruppen fallen die z.T. beträchtlichen Streuungen auf, was auf die große interindividuelle Schwankung der Lipidausscheidungen hinweist. Durch Bezug der Lipidmenge auf den Kreatinin Gehalt des Urins, welcher als relativ konstante individuelle Größe gilt, sollte versucht werden, eine von der Harnmenge unabhängige Größe zu erhalten; doch ergeben sich auch bei diesem Verfahren große Schwankungen, kenntlich an den erheblichen Streuungen um die Mittelwerte.

Bei den Korrelationsrechnungen ergibt sich für das Glycerid-Glycerin im Urin als wesentliches Ergebnis, daß es weder bei Normalpersonen noch bei den untersuchten Krankheitsgruppen eine Abhängigkeit von den Serumtriglyceriden oder dem Serumcholesterin aufweist. Die Höhe der Serumlipidspiegel ist also ohne erkennbaren Einfluß auf das Auftreten von Triglyceriden im Urin.

Bei vier Gruppen aber, den Normalpersonen, den Diabetikern, den Pankreaserkrankungen und den Hyperlipidämien zeigen sich auf dem 1%-Niveau signifikante Abhängigkeiten des Glycerid-Glycerins im Urin von der 24-Stunden-Menge des Urins. Für diese Gruppen zumindest kann gefolgert werden, daß die Ausscheidung von Glycerid-Glycerin in den Urin mit zunehmender Harnmenge pro 24 Stunden ebenfalls zunimmt. Für die Gruppe der Normalpersonen ist eine direkte Beziehung zwischen Glycerid-Glycerin und dem Cholesterin im Urin nachweisbar. Je mehr von der einen Substanz in 24 Stunden auftritt, um so mehr ist auch von der anderen Substanz zu finden. Bei der Gruppe der Hyperlipidämien besteht demgegenüber die umgekehrte Beziehung. Je mehr von der einen Substanz auftritt, um so weniger ist von der anderen nachweisbar.

Der Lipidphosphor im Urin ist bei den Normalpersonen positiv mit dem Glycerid-Glycerin korreliert. Eine ebensolche Beziehung besteht bei der Gruppe der Leberzirrhose. Je mehr Glycerid-Glycerin im Urin nachweisbar, um so mehr Lipidphosphor ist vorhanden.

Bei der Untersuchung der Abhängigkeiten zwischen dem Cholesteringehalt und dem Lipidphosphorgehalt des Urins tritt eine große Zahl positiver Korrelationen auf. Durchweg trifft dies für die Gruppen "Niereninsuffizienz", "Diabetes mellitus", "Herzinsuffizienz" zu, in geringerem Maße auch für die Gruppen "Leberzirrhose", "Pankreaskarzinom" und "Intoxikation". Für all diese Krankheitsbilder gilt also, daß die Ausscheidung von Cholesterin in den Urin gleichzeitig mit der Ausscheidung von Lipidphosphor in den Urin ansteigt.

Beim Urincholesteringehalt ergibt sich für die Gruppe der Normalpersonen eine negative und für die Gruppen der Leberzirrhose und Pankreaskarzinome jeweils eine positive Korrelation mit den Serumtriglyceriden. Die Gruppe der Leberkranken und die Gruppe der Intoxikationen weisen daneben noch eine positive Korrelation des Urincholesterins mit dem Serumcholesterin auf.

Eine direkte Abhängigkeit des Cholesterins im Urin von der 24-Stunden-Menge des Urins bestand bei den Normalpersonen, während die Lebererkrankten und Hyperlipidämiker hier ei-

ne umgekehrte Abhängigkeit zeigten.

Der Lipidphosphorgehalt des Urins weist zu den Serumtriglyceriden und der 24-Stunden-Menge des Urins keine statistisch gesicherte Beziehung auf. Lediglich bei der Intoxikationsgruppe ist eine positive Abhängigkeit vom Serumcholesterin nachzuweisen.

Zusammenfassend und vereinfachend kann also festgestellt werden:

a.) Bei den Gesunden Personen verhält sich das Glycerid-Glycerin des Urins direkt proportional zu dem Lipidphosphorgehalt, zum Cholesteringehalt und zur 24-Stunden-Menge des Urins. Keine Abhängigkeit des Glycerid-Glycerin- und des Cholesteringehaltes im Harn von den entsprechenden Serumlipidspiegeln ist nachzuweisen. Ebensowenig läßt sich eine Abhängigkeit des Lipidphosphors im Harn von den Serumlipidspiegeln aufzeigen.

b.) Von diesem Verteilungsmuster der Korrelationen weichen die verschiedenen Krankheitsgruppen in jeweils mehreren Punkten ab. So tritt fast durchweg die Beziehung des Glycerid-Glycerins im Urin zum Lipidphosphor und zum Cholesterin des Urins in den Hintergrund, während im Gegensatz zu den Normalpersonen eine Beziehung des Cholesterins zum Lipidphosphor im Urin bei fast allen anderen Gruppen festzustellen ist. Die genaue Verteilung der Korrelationen ist in Tab. 17 aufgeführt. Ein + bedeutet eine positive, ein - eine negative Korrelation.

Bei der Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Glycerid-Glycerin und Eiweiß im Urin stellt sich bei den Pankreaserkrankungen und bei den Hyperlipidämien eine auf dem 5%-Niveau auffällige positive Korrelation heraus.

Die Beziehungen zwischen Cholesterin- und Eiweißgehalt des Urins stellen sich deutlicher dar: bei der Gruppe der Pankreaskarzinome sowie bei der Gruppe der Intoxikationen treten je zwei auf dem 1%-Niveau signifikante positive Korrelationen auf.

Noch eindeutiger liegen die Verhältnisse bei der Beziehung zwischen dem Lipidphosphor- und dem Urineiweißgehalt. Hier bestehen bei den Gruppen "Leberzirrhose", "Pankreaskarzinom" und "Intoxikation" deutlich positive Zusammenhänge. Die Gruppe "Niereninsuffizienz" korrelierte weniger stark positiv.

Korrelation zwischen	Norm- pers.	Nieren- insuff.	Diab. mell.	Leb- zirrh.	Herz- insuff.	Pank- karz.	Hyper- lip.	Intoxi- kat.
Glyc.-Glyc. i.Urin und Lipid-P. i.Urin	+			+				
Glyc.-Glyc. i.Urin und Cholesterin i.Urin	+						-	
Cholesterin i.Urin und Lipid-P. i.Urin		+	+	+	+	+		+
Glyc.-Glyc. i.Urin und 24-h-Menge Urin	+		+			+	+	
Cholesterin i.Urin und Serumtriglyceriden	-			+		+		
Cholesterin i.Urin und Serumcholesterin				+				+
Cholesterin i.Urin und 24-h-Menge Urin	+			+			+	
Lipid-P. i.Urin und Serumcholesterin								+

Tab. Nr. 17: Statistisch gesicherte Beziehungen der Lipidsubstanzen des Urins untereinander, zu der 24-h-Menge des Urins und zu den Serumlipiden.

+ bedeutet positive, - negative Korrelation

Korrelation zwischen	Norm- pers.	Nieren- insuff.	Diab. mell.	Leb- zirrh.	Herz- insuff.	Pank- karz.	Hyper- lip.	Intoxi- kat.
Glyc.-Glyc. i.Urin und Eiweiß i.Urin						+	+	
Cholesterin i.Urin und Eiweiß i.Urin						+		+
Lipidphosphor i.Urin und Eiweiß i.Urin		+		+	+	+		+

Tab. Nr. 18: Statistisch gesicherte Beziehungen der Lipidsubstanzen des Urins zum Eiweiß des Urins.

+ bedeutet positive Korrelation, Anzahl der Zeichen gleich Anzahl der korrelierenden Dimensionen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Gruppe der Pankreaskarzinome als einzige sowohl beim Glycerid-Glycerin als auch beim Cholesterin sowie beim Lipidphosphor des Urins direkt proportionale Abhängigkeiten vom Urineiweiß aufweist. Für die Gruppe der Intoxikationen war dies nur beim Cholesterin und bei den Phospholipiden des Urins der Fall. Die Gruppen "Niereninsuffizienz", "Leberzirrhose" und "Hyperlipidämie" weisen eine Abhängigkeit vom Urineiweiß bei nur jeweils einem Parameter auf. So läßt gerade die Gruppe der Niereninsuffizienzen, bei der man es am ehesten erwartet hätte, keine sicheren Rückschlüsse über eine Kopplung zwischen Urineiweiß und Urinlipidsubstanzen zu. Dagegen treten bei anderen Krankheitsbildern zum Teil recht deutliche Zusammenhänge zwischen dem Urineiweiß und den einzelnen Urinlipidsubstanzen zu Tage. (Vergl. Tab. 18)

Die Untersuchung der Beziehungen zwischen Urinlipidsubstanzen und Serumspiegeln von Kreatinin, Harnstoff und der Kreatininclearance, die unternommen wurde, um den Einfluß einer renalen Störung auf die Ausscheidung von Lipiden in den Urin zu klären, zeitigt sehr unterschiedliche Ergebnisse. Die Gruppe der Normalpersonen läßt keine eindeutigen Ergebnisse erkennen. Bei der Gruppe der Niereninsuffizienzen ist jedoch eine deutlich positive Korrelation des Glycerid-Glycerins im Urin sowohl mit dem Serumkreatinin als auch mit dem Serumharnstoff festzustellen, während Cholesterin- und Lipidphosphorgehalt sich unabhängig verhielten.

Die Gruppe der Herzinsuffizienzen zeigt signifikant positive Korrelationen des Cholesterins und des Lipidphosphors im Urin mit dem Serumkreatinin.

Die Gruppe der Intoxikationen weist deutliche Korrelationen des Cholesterins und des Lipidphosphors im Urin mit der Kreatininclearance auf, und bei den Diabetikern korreliert der Cholesteringehalt auffällig mit der Kreatininclearance. Die übrigen eher uneinheitlichen Korrelationen sind in Tab. 19 noch einmal zusammengefaßt.

In der Zusammensicht und stark vereinfacht kann gesagt werden, daß vor allem die Höhe des Serumkreatinins und die Kreatininclearance in direkter Beziehung zur Höhe

Der Urinlipidsubstanzen stehen. Dies gilt besonders für die Krankheitsbilder "Niereninsuffizienz", "Herzinsuffizienz", "Leberzirrhose", "Diabetes mellitus" und "Intoxikationen".

Die Gruppe der Pankreaskarzinome teigt für den Glycerid-Glycerin- und für den Cholesteringehalt des Urins auf dem 5%-Niveau auffällige positive Korrelationen mit dem Serumharnsäurespiegel. Bei der Gruppe der Hyperlipidämie korrelieren auf dem 5%-Niveau das Glycerid-Glycerin im Urin mit dem Serumharnsäurespiegel und der Lipidphosphor des Urins mit der Höhe des anorganischen Phosphats im Serum. Die Intoxikationsgruppe zeigt auf dem 1%-Niveau signifikante Beziehungen zwischen dem Glycerid-Glycerin des Urins und dem Serumgesamtweiß, während die Gruppe der Leberzirrhose auf diesem Niveau Korrelationen zwischen dem Lipidphosphor des Urins einerseits und sowohl dem Serumgesamtweiß als auch der Serumglucose aufweist. (Vergl. Tab. 20)

II. Die teils aus der Literatur, teils aus eigenen Überlegungen entwickelten Aufgaben und Fragen, die dieser Arbeit zugrunde lagen und die im einzelnen im Abschnitt B aufgeführt sind, können dahingehend beantwortet werden:

- 1.) Ein Lipoproteinnachweis im Urin konnte mit der Methode der Agarose-Gel-Elektrophorese nicht erbracht werden.
- 2.) Bei den Urinlipiden konnten gaschromatographisch Fettsäuren der Kohlenstoffkettenlängen C_{11} bis C_{20} nachgewiesen werden. Am häufigsten traten Palmitin-, Öl- und Linolsäure auf. Es waren einfach bis mehrfach ungesättigte Fettsäuren zu finden. Das Fettsäuremuster der Lipidsubstanzen im Urin entspricht dem der Lipidsubstanzen im Serum weitgehend.
- 3.) Alle untersuchten Personen scheiden Glycerid-Glycerin in den Urin aus. Die Gruppe der gesunden Normalpersonen unterscheidet sich statistisch gesichert von allen Krankheitsgruppen durch eine niedrigere Ausscheidung. Statistisch gesicherte Unterschiede zwischen Krankheitsgruppen konnten nicht ermittelt werden. Cholesterin tritt ebenfalls bei allen untersuchten Per-

Korrelation zwischen	Norm. pers.	Nieren insuff.	Diab. mell.	Leb. zirr.	Herz. insuff.	Pank. karz.	Hyper. lip.	Int. k.
Glyc.-Glyc. i.U. Kreatinin i.S.		+		+	+			
Glyc.-Glyc. i.U. Harnstoff i.S.		+			+			
Glyc.-Glyc. i.U. Kreatinin-Clearance				-				+
Cholesterin i.U. Harnstoff i.S.	+							
Cholesterin i.U. Kreatinin-Clearance			+	+	+			
Cholesterin i.U. Kreatinin i.S.					+	+		
Lipid-P i.U. Kreatinin i.S.					+	+		
Lipid-P i.U. Kreatinin-Clearance								+

Tab.Nr.19: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen den Urin-Lipidsubstanzen einerseits und dem Serumkreatinin, dem Serumharnstoff, der Kreatininclearance andererseits.
 + bedeutet positive und - negative Korrelation.
 Anzahl der Zeichen gleich Anzahl der korrelierenden Dimensionen.

Korrelation zwisch.	Norm. pers.	Nieren insuff.	Diab. mell.	Leb. zirr.	Herz. insuff.	Pank. karz.	Hyper. lip.	Int. k.
Glyc.-Glyc. i.U. Eiweiß i.S.		+						-
Lipid-P i.U. Eiweiß i.S.			-	-	-			
Glyc.-Glyc. i.U. Harnsäure i.S.						+	+	
Cholesterin i.U. Harnsäure i.S.						+		
Lipid-P i.U. Glucose i.S.				+				
Lipid-P i.U. anorgan. Phosphat i.S.							+	

Tab.Nr.20: Statistisch gesicherte Beziehungen zwischen den Urin-Lipidsubstanzen einerseits und dem Serum-Eiweiß, der Serum-Harnsäure, der Serum-Glucose und dem anorganischen Phosphat im Serum andererseits.
 Zeichenerklärung: siehe oben.

sonen im Urin auf. Die Gesunden unterscheiden sich gesichert durch eine höhere Ausscheidung von den Hyperlipidämikern, den Leberkranken, den Nierenkranken und den Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse. Ein Unterschied der Gesunden zu den übrigen untersuchten Krankheitsgruppen konnte nicht gesichert werden. Die Lebererkrankungen unterscheiden sich durch eine geringere Ausscheidung von den Vergiftungen. Alle Untersuchten Personen weisen auch Lipidphosphor im Urin auf. Statistisch gesicherte Unterschiede ergaben sich in keinem Fall.

Eine Erklärung für diese unterschiedlichen Ausscheidungsmuster ist nicht ohne weiteres möglich. Da die Untersuchungen im zentrifugierten Harn vorgenommen wurden, sind die nachgewiesenen Lipide nicht unbedingt Bestandteile der abgeschilferten Harnwegs- und Tubuluszellen, es sei denn, die Lipide sind aus dem Zelldetritus des Sediments in den Überstand des Zentrifugates übergegangen.

Um weitere Einblicke in das Ausscheidungsverhalten der Lipide in den Urin zu gewinnen, wurden korrelationsstatistische Analysen mit einer Vielzahl von Harn- und Blutmeßgrößen vorgenommen, auf die im folgenden eingegangen wird.

4.) Die Gruppe der Pankreaserkrankungen läßt eine signifikante direkte Proportionalität aller drei Urinfettssubstanzen zum Urineiweiß erkennen. Bei der Gruppe der Intoxikationen war dies nur für Cholesterin und Phospholipide der Fall, bei der Gruppe der Leberzirrhose nur für die Phospholipide. Eine statistisch auffällige Beziehung im Sinne der positiven Korrelation zwischen den Urinlipiden einerseits und dem Serumkreatinin und der Kreatininclearance andererseits konnte für Nieren- und Herzinsuffizienz, Leberzirrhose, Diabetes mellitus und Intoxikationen festgestellt werden. Der Serumharnstoff erwies sich als nicht korreliert mit den Lipidgehalten des Urins.

Bei Gesunden besteht eine gesicherte direkte Proportionalität zwischen Glycerid-Glycerin und Lipidphosphor, Cholesterin und der 24-Stunden-Menge des Urins. Eine solche direkte Beziehung besteht auch zwischen dem Cholesterin und der 24-Stunden-Menge des Urins. Eine statis-

tisch gesicherte Beziehung zwischen den Lipiden im Urin und im Serum konnte nicht gefunden werden.

Alle untersuchten Krankheitsgruppen weichen von diesen Verhältnissen bei Gesunden in mehreren Punkten ab, ohne daß krankheitstypische Verteilungsmuster herausgearbeitet werden konnten.

Zum Spiegel der Serumharnsäure, des anorganischen Phosphats im Serum, des Serumgesamteiweißes und der Serumglucose weisen die Urinlipide der gesunden Personen keine Beziehungen auf. Auch die Krankheitsgruppen zeigen in dieser Hinsicht keine verwertbaren gesicherten Korrelationen.

Auch die korrelationsstatistischen Analysen erbringen vielfältige, z.T. verwirrende Ergebnisse und Interrelationen, deren pathophysiologische Deutung schwierig ist. In einigen Fällen läßt sich eine Abhängigkeit der Lipidmenge von der Menge der Harnproduktion nachweisen. Dies deutet möglicherweise auf einen aktiven Sekretionsmechanismus für Lipide hin. In einigen anderen Gruppen ist ein Zusammenhang mit der Gesamteiweißausscheidung erwiesen, doch überraschenderweise fehlt eine derartige Beziehung bei Patienten mit Nierenerkrankungen. Die positiven Beziehungen zwischen Cholesterin- und Lipidphosphorausscheidung, die bei fast allen untersuchten Gruppen bestehen, zeigen an, daß für beide Substanzen offenbar gleichartige Ausscheidungsmechanismen bestehen. Daß eine derartige Korrelation im Falle der Glyceride nur im Kollektiv der Normalpersonen und im Falle der Hyperlipidämie gar in negativer Weise auftritt, verdient besonders hervorgerufen zu werden. Hierin könnte man einen Hinweis darauf erblicken, daß für die Glyceridausscheidung andere Mechanismen zuständig sind als für Cholesterin- und Phosphatidausscheidung.

5.) Die von S. KLAHR¹⁷ 1967 gefundene gute Korrelation zwischen Harncholesterin und Harn-eiweiß beim nephrotischen Syndrom konnte durch die vorliegende Arbeit für die Gruppe der Niereninsuffizienzen nicht bestätigt werden. Eine Korrelation zwischen diesen beiden Substanzen bestand lediglich bei der Gruppe der Intoxikationen. Sein Postulat eines obligaten glomerulären Schadens zum Übertritt von Lipiden in den Urin konnte durch die vorliegenden Untersuchungen nicht erhärtet werden, da alle Untersuchten, auch die Gesunden, Fettsubstanzen im Urin aufwiesen. Zwar lag

die Ausscheidung von Triglyceriden bei Gesunden signifikant niedriger als die aller Krankheitsgruppen, aber ein Unterschied zwischen renalen Erkrankungen und anderen Krankheitsbildern ließ sich nicht herausarbeiten. Ebenfalls gegen dieses Postulat spricht die Tatsache, daß die Cholesterinausscheidung in den Urin bei Gesunden signifikant höher lag als bei den Nierenkranken und bei anderen Krankheitsbildern. Ein obligater Glomerulumschaden scheint zum Übertritt von Fetten also nicht vorliegen zu müssen.

KLAHR¹⁷ nimmt ferner an, daß die Fette als Lipoproteine ins Glomerulumfiltrat übertreten. SCHRADE et al.²⁴ gelang der papierelektrophoretische Nachweis von drei Lipoproteinfraktionen auch im Harn Gesunder, welche Tatsache im übrigen ebenfalls gegen einen obligaten Glomerulumschaden spricht. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten elektrophoretischen Untersuchungen im Agarose-Gel konnten SCHRADES²⁴ Feststellung nicht bestätigen. Die Ursache hierfür dürfte jedoch in methodischen Problemen liegen, so daß eine weitere Stellungnahme hierzu unterbleiben muß.

FLÜGGE¹⁰ spricht 1964 von einer vermehrten Lipidurie bei Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Intoxikationen, fortgeschrittener Nephritis und Fettembolien. Für das Glycerid-Glycerin des Urins kann dies im Vergleich mit Gesunden bei Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Intoxikationen und Niereninsuffizienz bestätigt werden. Für Cholesterin und Lipidphosphor ist demgegenüber eine solche Bestätigung nicht zu geben. Im Gegenteil, die Gesunden schieden mehr Cholesterin in den Urin aus als die Hyperlipidämiker und die Nierenkranken.

Zu den bei YAMAKAWA²⁶ angeführten Werten des Gesamtcholesterins im 24-Stunden-Urin Gesunder, die von GARDNER, BRUGER und CONINGS (Zitate unter /²⁶) gefunden wurden, stehen die hier ermittelten Werte in gewissem Widerspruch. Immerhin kann festgestellt werden, daß sich die Angaben über die tägliche Gesamtcholesterinausscheidung zwischen 0,27 mg bei BRUGER, 2,8 mg bei GARDNER und 480 mg bei CONINGS bewegen; der in dieser Arbeit ermittelte Wert von $21,76 \pm 9,96$ mg Cholesterinausscheidung pro 24 Stunden im Urin Gesunder läßt die von GARDNER und BRUGER ge-

fundenen Werte des Gesamtcholesterins eindeutig als zu niedrig erscheinen. Der Wert von CONINGS erscheint als wesentlich überhöht. YAMAKAWA²⁶ untersuchte die Gesamtfettsäuren im Urin gaschromatographisch, machte Mengenangaben und verglich Gesunde und Kranke. Angaben über Fettsäuremuster und Differenzierungen zwischen Triglyceriden, Cholesterin und Phospholipiden sind nicht zu finden. Da die hier durchgeführten Untersuchungen detaillierter sind, können unsere gaschromatographischen Ergebnisse nicht mit denen von YAMAKAWA verglichen werden.

Die von LAUDAT et al.¹⁸ 1968 veröffentlichten Werte für Urinlipide im 24-Stunden-Harn Gesunder sind im Bereich der Triglyceride nicht direkt vergleichbar, da in der vorliegenden Arbeit auf eine Umrechnung des Glycerid-Glycerins verzichtet wurde, weil nicht von vornherein angenommen werden konnte, daß ein gleiches Fettsäuremuster wie im Serum vorliegt. Der von LAUDAT angegebene Wert von ca. 1 mg Cholesterin im 24-Stunden-Urin erscheint im Vergleich zum hier vorliegenden Wert von $21,76 \pm 9,96$ mg Cholesterin sehr niedrig. Für die Phospholipide gibt er einen Wert von 4 bis 5 mg/24-h-Urin an. Diese Größenordnung scheint durch den hier gefundenen Wert von $0,251 \pm 0,220$ mg Lipidphosphor/24 Stunden bestätigt zu werden, wenn man den Umrechnungsfaktor auf Phospholipide berücksichtigt.

In der erwähnten Arbeit berichtet LAUDAT auch, daß ein alpha-1-Lipoprotein in der Immunelektrophorese nach vorheriger stärkster Einengung des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Dieses Ergebnis konnte hier nicht reproduziert werden.

BRODER⁴ spricht 1969 von einer vermehrten Lipurie bei Fettstoffwechselstörungen und Intoxikationen. Bei Hyperlipidämikern und Intoxikationen konnte für das Glycerid-Glycerin des Urins diese Feststellung bestätigt werden, da sie eine höhere Ausscheidung als die Gesunden aufwiesen. Für das Cholesterin des Urins war dies jedoch nicht der Fall, wiesen doch z.B. die Gesunden hier eine höhere Ausscheidung auf als die Hyperlipidämiker.

Die von BENITO¹ 1969 gemachten Angaben über das freie und glucuroniierte Cholesterin im Urin können hier nicht

überprüft werden. Er stellte fest, daß das Cholesterin im Urin hauptsächlich aus freiem Cholesterin besteht und daß verestertes Cholesterin nur in sehr geringer Menge auftritt. Seine Angaben über das mengenmäßig entscheidende freie Cholesterin im Urin schwanken zwischen 0,21 mg und 1,57 mg/24 h. Seine Annahme einer Beziehung zwischen Cholesterinausscheidung in den Urin und einem "endogenen Pool" konnte für Gesunde ebenfalls nicht bestätigt werden, da hier keine Korrelationen zwischen Harncholesterin und Serumcholesterin bestehen. Dies war lediglich bei den Gruppen der Lebererkrankten und Vergifteten der Fall.

In der vorliegenden Arbeit wurde auch der Versuch einer Darstellung von Lipoproteinsubstanzen im Urin mittels der Agarose-Gel-Elektrophorese und der Immunelektrophorese unternommen. Ein Nachweis gelang nicht. Wie schon beschrieben, ist dies mit sehr großer Wahrscheinlichkeit auf methodische Schwierigkeiten zurückzuführen. Die in der Literatur beschriebenen Nachweise sollten nicht angezweifelt werden. Selbst bei stärkstens eingeeengten Urinen können im Agarose-Gel am Auftragungsort keine sehr großen Mengen Substanz eingesetzt werden, so daß die Nachweismethode versagt. Diese Versuche müßten unter variierten Bedingungen und unter gleichzeitiger papierelektrophoretischer Kontrolle erneut unternommen werden.

Insgesamt stellt die vorliegende Arbeit einen ersten Versuch zur Klärung der pathophysiologischen Vorgänge von Lipidausscheidungen in den Harn dar. Einen weiten Raum nahmen die Vorarbeiten zur Entwicklung einer brauchbaren, sicheren und reproduzierbaren Methodik der Probengewinnung und Verarbeitung ein. Die Untersuchung der Urine von Normalpersonen und verschiedenen Krankheitsgruppen bezüglich der Lipidausscheidungsmuster und deren Korrelationen und Interrelationen zu anderen Harn- und Serumbestandteilen erbrachten eine Vielzahl von teils verständlichen, teils auch zunächst verwirrenden Zusammenhängen. Eine Reihe der hier ungelösten Probleme und Fragen bedürfen weiterer gezielter experimenteller Untersuchungen.

F ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) Die Ausscheidung von Lipiden und Lipoproteinen mit dem Harn sollte ermittelt werden. 24-Stunden-Portionen des Harns von 90 Patienten mit verschiedenartigen Erkrankungen und von 10 Gesunden wurden auf ihren Gehalt an Glycerid-Glycerin, Gesamtcholesterin und Lipidphosphor untersucht. 46 Harnproben wurden nach erheblicher Konzentrierung einer Elektrophorese auf Agarose, 10 Proben einer Immunpräzipitation unterworfen. Die Gesamtlipide von 5 24-Stunden-Harnen wurden präparativ dünnschichtchromatographisch in die Glyceride, Cholesterinester und Phospholipide aufgetrennt. Das Fettsäuremuster der jeweiligen Fraktion wurde gaschromatographisch analysiert.
- 2.) Die Methodik der Harnanalysen, mögliche Fehlerquellen, Störfaktoren der Analysen und optimale Bedingungen zur Konservierung, Einengung und Lipidextraktion wurden in ausführlichen Vorversuchen ermittelt und dargestellt.
- 3.) Als Ergebnis der Prüfungen auf Vorhandensein von Lipoproteinen im zentrifugierten Harn ist festzuhalten, daß es mit keiner der unter 1.) genannten Methoden gelang, Lipoproteine im Harn, auch nach erheblicher Konzentration auf 1/100 des Ausgangsvolumens nachzuweisen.
- 4.) Das Fettsäuremuster der Glyceride, Cholesterinester und Phospholipide ist dem der Serumlipide ähnlich; Palmitin-, Palmitoyl-, Stearin-, Öl- und Linolsäure machen die Hauptbestandteile aus.
- 5.) Quantitative Unterschiede in der Ausscheidung der einzelnen Lipide im 24-Stunden-Urin ergaben sich für Cholesterin und Glyceride, während die Mengen an Lipidphosphor bei Gesunden und sämtlichen Patientengruppen keine signifikanten Unterschiede aufwiesen.
Im Falle der Glyceride fanden sich im Vergleich zu Normalpersonen (n=10) signifikant höhere Ausscheidungen bei Patienten mit Nephropathien (n=25), mit Diabetese mellitus

(n=23), mit chronischen Lebererkrankungen (n=23), mit Pankreaserkrankungen (n=8) sowie mit Hyperlipidämien (n=5). Besonders stark erhöhte Ausscheidungen wiesen Patienten mit Diabetes mellitus und mit Herzinsuffizienz auf (27 bzw. 53 $\mu\text{Mol}/24 \text{ h}$)

Die Cholesterinausscheidung im 24-Stunden-Urin zeigt bei Gesunden die höchsten Werte ($21,76 \pm 9,96 \text{ mg}/24 \text{ h}$) auf. Bei Patienten mit Nephropathien, mit Diabetes mellitus, mit chronischen Lebererkrankungen, mit Herzinsuffizienz, mit Pankreaserkrankungen und mit Hyperlipidämien lagen die Werte für die Cholesterinausscheidung signifikant niedriger bei 5 bis 10 $\text{mg}/24 \text{ h}$.

6.) Zwischen Cholesterin- und Lipidphosphorausscheidung bestehen in nahezu allen Gruppen signifikante Korrelationen; die Glycerid-Glycerinausscheidung ist nur im Kollektiv der Gesunden mit den beiden anderen Lipiden positiv korreliert. Positive Korrelationen zwischen 24-Stunden-Harnmenge und Lipidausscheidung (außer für Phospholipide) wurden nachgewiesen für die Gruppen der Normalpersonen, Diabetes mellitus, Leberzirrhose, Pankreaserkrankungen und Hyperlipidämien. Enge Beziehungen wurden statistisch gesichert zwischen Eiweißausscheidung und Lipidphosphorausscheidung bei Niereninsuffizienzen, Leberzirrhosen, Pankreaserkrankungen und Intoxikationen, nicht aber bei Gesunden. Glycerid-Glycerin- und Cholesteringehalt des Urins korrelieren in fast keiner Gruppe, namentlich nicht bei Gesunden und Nierenkranken mit der Eiweißausscheidung. Keine Beziehung konnte nachgewiesen werden zwischen Lipidspiegeln im Serum und Lipidausscheidung im Harn.

7.) Diskussion und Deutung der Befunde bereiten z.T. erhebliche Schwierigkeiten angesichts der Vielfalt und Uneinheitlichkeit der nachgewiesenen statistischen gesicherten Beziehungen.

G LITERATURVERZEICHNIS

1. BENITO, A. Vela : Urinary Cholesterol. I. Isolation and Characterisation of "Free" Cholesterol in Normal and Pregnant Subjects.
J. clin. Endocr. Metabol. 29, 1251-58 (1969)
2. BERNHARD, K. und GREUB, H. R. : Analyse der Fettsäuren aus dem Carcass calorisch ungenügend ernährter Ratten.
Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, Band 8, Heft 1-3
3. BONDUELLE, M., BOUYGUES, P. : Maladie de Refsum. Étude des lipides du sérum et des urines.
Rev. Neurol. 115, 933-42 (1966)
4. BRODER, G. : Quantitation and clinical significance of urinary fat.
Lancet, II, 26, 188-89 (1969)
5. DESNICK, R. J. : A method for the quantitative determination of neutral glycosphingolipids in urine sediment.
J. Lipid Res. 11, 31-7 (1970)
6. EGGSTEIN, M., KREUTZ, R. H. : Eine neue Bestimmung der Neutralfette in Blutserum und Gewebe.
Klin. Wschr. 44, 262-67 (1966)
7. FARMER, R. W. : Substances affecting fat mobilisation in the urine of fasting sheep.
J. anim. Sci. 30, 207-13 (1970)
8. FEDELI, E. : Risoluzione e riconoscimento di lipidi plasmatici, urinari e testuali. Difficoltà, metodi e proposte.
Epatologia, 14, 137-45 (1968)
9. FISKE, C. H., SUBAROW, Y. : The colorimetric determination of phosphorus.
J. Biol. Chem. 66, 375-400 (1955)

(n=23), mit chronischen Lebererkrankungen (n=23), mit Pankreaserkrankungen (n=8) sowie mit Hyperlipidämien (n=5). Besonders stark erhöhte Ausscheidungen wiesen Patienten mit Diabetes mellitus und mit Herzinsuffizienz auf (27 bzw. 53 $\mu\text{Mol}/24 \text{ h}$)

Die Cholesterinausscheidung im 24-Stunden-Urin zeigt bei Gesunden die höchsten Werte ($21,76 \pm 9,96 \text{ mg}/24 \text{ h}$) auf. Bei Patienten mit Nephropathien, mit Diabetes mellitus, mit chronischen Lebererkrankungen, mit Herzinsuffizienz, mit Pankreaserkrankungen und mit Hyperlipidämien lagen die Werte für die Cholesterinausscheidung signifikant niedriger bei 5 bis 10 $\text{mg}/24 \text{ h}$.

6.) Zwischen Cholesterin- und Lipidphosphorausscheidung bestehen in nahezu allen Gruppen signifikante Korrelationen; die Glycerid-Glycerinausscheidung ist nur im Kollektiv der Gesunden mit den beiden anderen Lipiden positiv korreliert. Positive Korrelationen zwischen 24-Stunden-Harnmenge und Lipidausscheidung (außer für Phospholipide) wurden nachgewiesen für die Gruppen der Normalpersonen, Diabetes mellitus, Leberzirrhose, Pankreaserkrankungen und Hyperlipidämien. Enge Beziehungen wurden statistisch gesichert zwischen Eiweißausscheidung und Lipidphosphorausscheidung bei Niereninsuffizienzen, Leberzirrhosen, Pankreaserkrankungen und Intoxikationen, nicht aber bei Gesunden. Glycerid-Glycerin- und Cholesteringehalt des Urins korrelieren in fast keiner Gruppe, namentlich nicht bei Gesunden und Nierenkranken mit der Eiweißausscheidung. Keine Beziehung konnte nachgewiesen werden zwischen Lipidspiegeln im Serum und Lipidausscheidung im Harn.

7.) Diskussion und Deutung der Befunde bereiten z.T. erhebliche Schwierigkeiten angesichts der Vielfalt und Uneinheitlichkeit der nachgewiesenen statistischen gesicherten Beziehungen.

G LITERATURVERZEICHNIS

1. BENITO, A. Vela : Urinary Cholesterol. I. Isolation and Characterisation of "Free" Cholesterol in Normal and Pregnant Subjects.
J. clin. Endocr. Metabol. 29, 1251-58 (1969)
2. BERNHARD, K. und GREUB, H. R. : Analyse der Fettsäuren aus dem Carcass calorisch ungenügend ernährter Ratten.
Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, Band 8, Heft 1-3
3. BONDUELLE, M., BOUYGUES, P. : Maladie de Refsum. Étude des lipides du sérum et des urines.
Rev. Neurol. 115, 933-42 (1966)
4. BRODER, G. : Quantitation and clinical significance of urinary fat.
Lancet, II, 26, 188-89 (1969)
5. DESNICK, R. J. : A method for the quantitative determination of neutral glycosphingolipids in urine sediment.
J. Lipid Res. 11, 31-7 (1970)
6. EGGSTEIN, M., KREUTZ, E. H. : Eine neue Bestimmung der Neutralfette in Blutserum und Gewebe.
Klin. Wschr. 44, 262-67 (1966)
7. FARMER, R. W. : Substances affecting fat mobilisation in the urine of fasting sheep.
J. anim. Sci. 30, 207-13 (1970)
8. FEDELI, E. : Risoluzione e riconoscimento di lipidi plasmatici, urinari e testuali. Difficoltà, metodi e proposte.
Epatologia, 14, 137-45 (1968)
9. FISKE, C. H., SUBAROW, Y. : The colorimetric determination of phosphorus.
J. Biol. Chem. 66, 375-400 (1955)

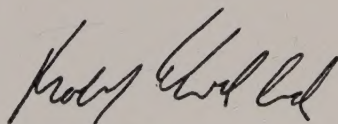
10. FLÜGGE, R. : Chylurie
Med.Klin.59, 1013-15(1964)
- 10a. FOLCH, J., M. LEES, : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues.
G.H. SLOANE-STANLEY J.biol.Chem.226, 497-509(1957)
11. FRICK, J., SPITELLER, G.: Cholesterin und Harntrakterkrankungen.
Zeitschr.f.Urologie,12, 833-38(1968)
12. GUPTA, D. : Urinary steroids in children with lipodystrophy.
Clin.Chim.Acta,26, 357-362(1969)
13. HAGIHARA, S., OBO, F. : A study on the determination of cholesterol in urine.
Acta med.univ.Kagoshimaensis,11, 11-14(1969)
14. HALLMANN, L. : Fette im Urin
Klinische Chemie und Mikroskopie, 10.Aufl., Stuttg., G.Thieme, 1966
15. HENNING, N. : Harntabellen
Klinische Laboratoriumsdiagnostik, 3.Aufl., München, Urban u. Schwarzenbeck, 1966
16. HOLMES, F.E. : A Turbulant Drier-Extractor and a Wide-Interface Extractor. A Method for Determination Total Lipid in Serum, Feces and Urine.
Clin.Chem.10.No.II, 1007-24(1964)
17. KLAHR, S., TRIPATHY, K., : Qualitative and Quantitative Analysis of Urinary Lipids in the Nephrotic Syndrome.
BOLANOS, O. J.Clin.Invest.46, 1475-81(1967)
18. LAUDAT, M.H. : Les lipides urinaires.
Rev.frac.d'études clin.biolog.13, 168-72(1968)
19. PERELLI, G. : Sindrome chilurica.
Minerva med.59, 5825-30(1968)
20. PERRY, Th.L. : Volatile Fatty Acids in Normal Human Physiological Fluids.
Clin.chim.acta,29, 369-74(1970)

21. POLLAK, V.E., GAIZUTIS, : Serum proteins in urine. Examination of a new method for concentrating urine.
J. Lab. Clin. Med. II, 338-344, (1968)
22. ROUGIER, G., BABIN, R., : Modifications sériques et urinaires intéressant les éléments du métabolisme lipidique et de l'équilibre acido-basique lors d'exercices musculaire prolongés.
J. Physiol. 59, Suppl. 489, (1969)
23. SNYDER, F., CRESS, E.A. : Application of Thin-Layer Chromatographic Zonal ¹⁴C-Profile Scans to the Analysis of Urinary Constituents from Lipids.
Clin. Chem., 14, 529-34 (1968)
24. SCHRADER, W., BÖHLE, E., : Über die Ausscheidung von Lipoproteiden im Urin bei den sogenannten Albuminurien.
Dtsch. Arch. klin. Med. 202, 415-436, (1955)
25. WHERRETT, J.R. : Analysis of polar lipids in the urine sediment.
Clin. Chim. Acta, 16, 135-145
26. YAMAKAWA, K. : A Study on Urinary Fatty Acid in Renal Diseases by GAS-Liquid Chromatography.
Jap. J. Exp. Med. 37, 1-9 (1967)
27. ZAK : A simple rapid microtechnic for serum total Cholesterol.
Amer. J. Clin. Path. 27, 583-588 (1957)

Lebenslauf

- 29.6.39 als einziges Kind der Eheleute August Schwalbach,
Kaufmann, und Luise Schwalbach, geb. Krieger, in
Wiesbaden geboren.
- 1945 - 50 Volksschule Wiesbaden-Dotzheim
- 1950 - 55 Leibnizgymnasium Wiesbaden
- 1955 - 60 Rheingaugymnasium, Geisenheim, Abiturabschluß.
- 1960 - 61 Chemie-Studium Universität Mainz.
- 1961 - 63 Philologie- und Psychologiestudium Universität Mainz.
- 1963 - 67 Philologie-, Psychologie- und Medizinstudium an der
Universität Freiburg/Breisgau.
- 1967 - 69 Medizinstudium an der Universität Mainz mit ab-
schließendem Staatsexamen.
- 1970 - 71 Medizinalassistentenzeit an der Universitäts-
klinik Mainz.
- 26.3.1970 Verehelichung mit Gisela Pieck, med. techn. Assistentin.
- 1972 - 74 Chirurgischer Assistent am St. Vincenz und Elisa-
beth-Hospital in Mainz.
- 1974 Orthopädischer Assistent an den Universitäts-
kliniken in Mainz.
- 18.5.1975 Tochter Sabine Schwalbach
- 1975 - 76 Internistischer Assistent am Kreiskrankenhaus
in Bad Schwalbach.
- 1977 Praxisassistent bei Dr. med. Stöcker in Wiesbaden.
- Seit 1.6.77 Niederlassung als Arzt für Allgemeinmedizin in
62 Wiesbaden-Dotzheim, Löwengasse 5.

62 Wiesbaden-Dotzheim
Löwengasse 7
den 30.1.1979


Rolf Schwalbach

